

The 29th Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicologic Pathology

第29回日本毒性病理学会 講演要旨集



2013年1月31日(木)・2月1日(金)

オークラフロンティアホテルつくば



第29回日本毒性病理学会総会及び学術集会

The 29th Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicologic Pathology

テーマ

ポストゲノム時代における毒性病理学の新たな展開
～ Future of Toxicologic Pathology in the Post-Genomic Era ～

年会長 原田 孝則（一般財団法人残留農薬研究所）

会期 平成25年1月31日(木)・2月1日(金)

会場 オークラフロンティアホテルつくば

〒305-0031 茨城県つくば市吾妻1丁目1364-1

TEL：029-852-1112

プログラム委員会（50音順）

委員長 中江 大（都健康安全研究センター）

委員 今井田克己（香川大）

中山 裕之（東大）

大石 裕司（アステラス）

福田 良（武田薬品）

小川久美子（国立衛研）

古川 賢（日産化学）

渋谷 淳（農工大）

細川 暁（エーザイ）

代田 欣二（麻布大）

義澤 克彦（関西医大）

寺西 宗広（第一三共）

事務局 第29回日本毒性病理学会総会及び学術集会 事務局

一般財団法人残留農薬研究所

〒303-0043 茨城県常総市内守谷町4321番地

TEL：0297-27-4521

[会期中の事務局]

オークラフロンティアホテルつくば 2階『夕映の間』

TEL：029-852-1112

[事務代行]

株式会社プロコムインターナショナル

TEL：03-5520-8821

ホームページ：<http://www.procomu.jp/jstp2013/>

第29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
参加者への御案内	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.....	35
シンポジウム	39
一般口演要旨	49
ポスター要旨	61
著者索引	109

年会長挨拶

この度、第29回日本毒性病理学会総会及び学術集会を2013年1月31日(木)～2月1日(金)にかけてオークラフロンティアホテルつくば(茨城県つくば市)において開催する運びとなりました。謹んでご挨拶申し上げます。

毒性病理学は、医薬・農薬等の化学物質の安全性評価において大きな役割を担って参りましたが、科学の進展とともに21世紀の現代生命科学は既にポストゲノム時代に入っており、毒性病理学においても新たな展開が求められています。このような状況下の中で、学術集会開催に向けプログラム委員会を設立し、委員長に中江大先生(東京都健康安全研究センター)にご就任頂き、加えて医学・獣医学系大学、国公立及び企業の研究機関から11名の先生方に委員として参画して頂き、事務局(一般財団法人残留農薬研究所)とともに学術集会の準備を進めて参りました。本学術集会では、「ポストゲノム時代における毒性病理学の新たな展開」をメインテーマとし、それに関連した特別講演「ポストゲノム時代における毒性病理専門家の役割」を1題、また、シンポジウムとして「毒性・発がん性試験における現行モデルの有用性と今後の展開」と「*in vivo*実験モデル及び代替法の新たな展開」の二つのセッションを企画し、さらに、一般演題として口演とポスターを合せ107題の研究発表を予定しております。

学術集会1日目(1月31日)の夕方には同ホテルの本館ジュピターの間で「懇親会」を開催致しますので、会員相互の交流の場として親睦を深めて頂ければ幸に存じます。また、学術集会2日目の午後には「評議員会及び総会」の開催を予定しておりますので多数のご出席をお願い致します。

本会開催に当たり、厳しい財政事情にも拘わらず多くの関連企業・団体様より寄付、ランチョンセミナー、企業展示、広告等の協賛を頂き、誠に有難く、心から厚く御礼申し上げます。

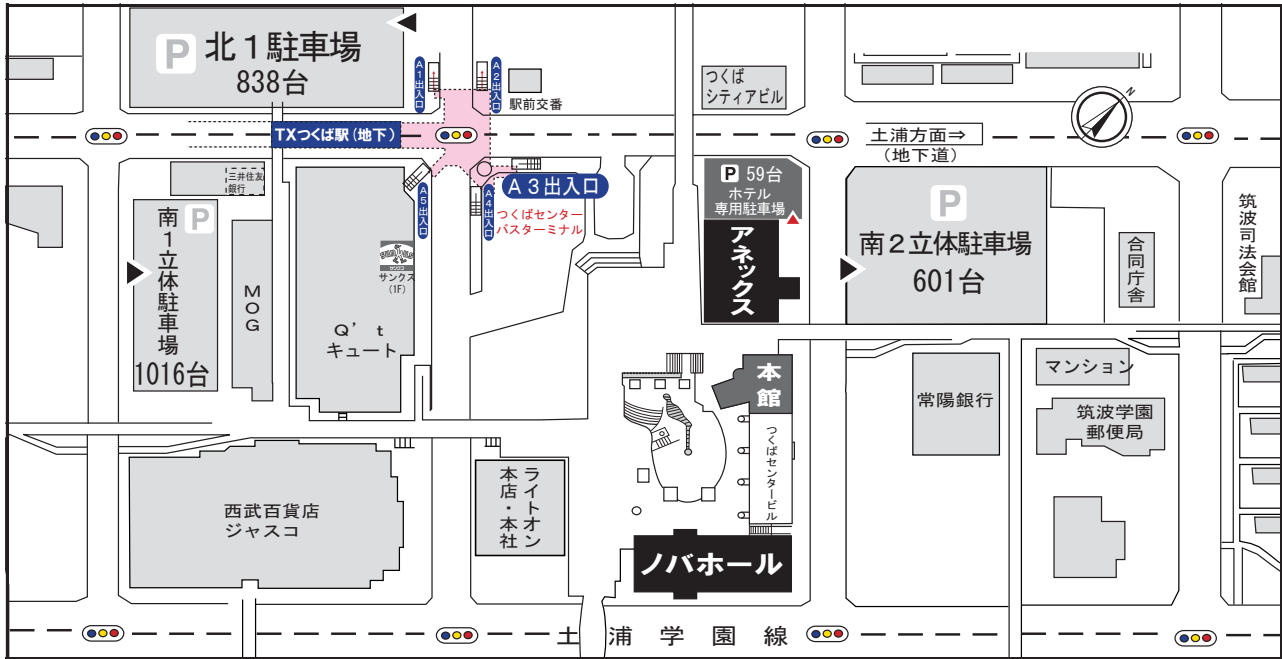
その他の関連イベントとして、学術集会前日の1月30日(水)には、会場に隣接する市立ノバホールに於いて日本毒性病理学会主催の毒性病理専門家認定試験の問題解説、第25回スライドカンファランス「内分泌系および生殖器系」及びIATPレクチャーが開催されます。また、その前日の1月29日(火)には同ホールにて初めての試みとして日本毒性病理学会(JSTP)と米国National Toxicology Program(NTP)との合同サテライトシンポジウム(参加無料)を開催致しますので多数の参加をお待ちしております。

第29回日本毒性病理学会総会及び学術集会が、今後の毒性病理学の進展の一助となり、会員の皆様にとっても実り多き集会となりますよう心より祈願致しております。

第29回日本毒性病理学会総会及び学術集会

年会長 **原田 孝則**

会場アクセス



オークラフロンティアホテルつくば

〒305-0031 茨城県つくば市吾妻1丁目1364-1

TEL : 029-852-1112 (代)

□ 電車のご利用の場合

- つくばエクスプレス：秋葉原よりつくば駅まで快速で45分

[本館] 終点のつくば駅で下車し、「A3」出口 (バスセンター内) 正面の階段で2階に上がっていただき、左手の建物になります。(徒歩2分)

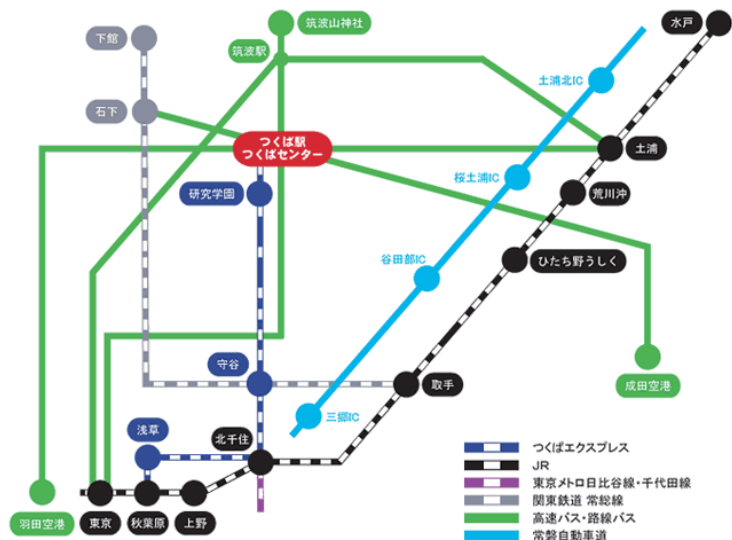
- JR：土浦駅、荒川沖駅、ひたち野うしく駅の各駅から、タクシー又はバスをご利用ください。

□ 高速バス利用の場合

- 東京駅八重洲南口より
「つくばセンター」まで約70分
(52便/日 (約3便/時間) ¥1,150)

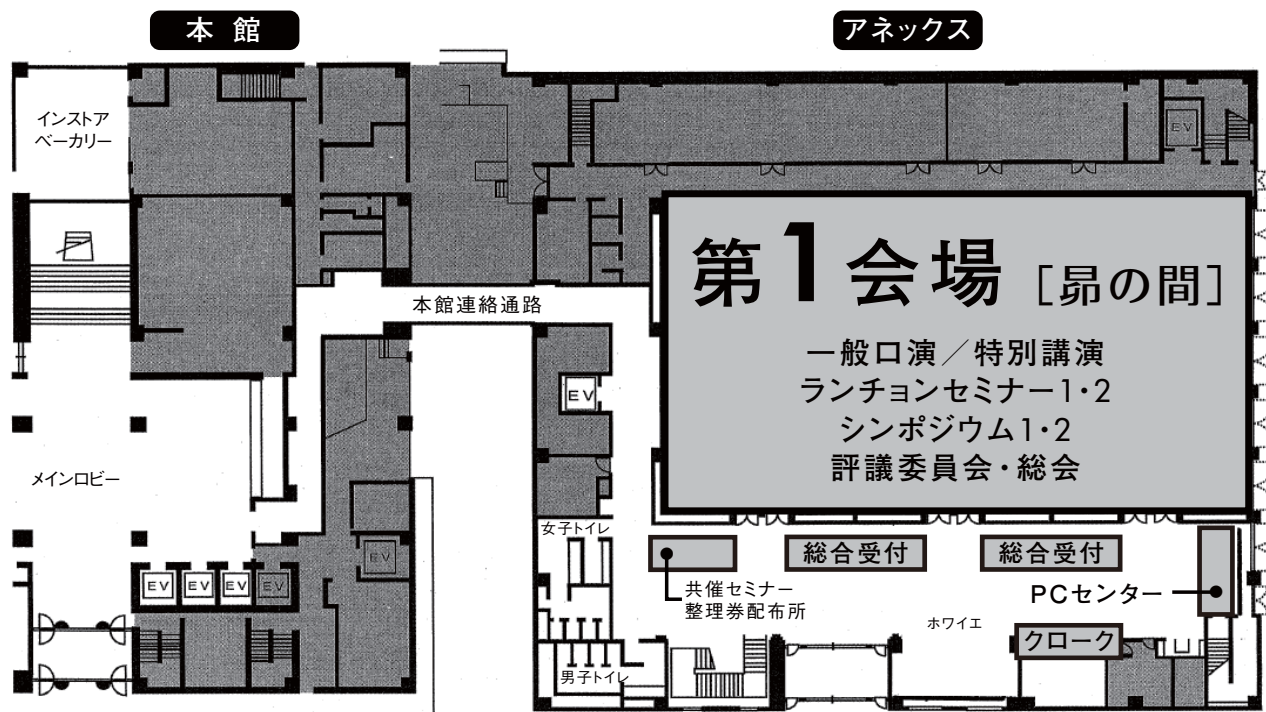
[空港より]

- 茨城空港から「つくばセンター行き」
リムジンバスにて約60分
(2便/日 ¥1,000)
- 成田空港から「つくばセンター行き」
リムジンバスにて約90分
(9便/日 ¥2,540)
- 羽田空港から「つくばセンター行き」
リムジンバスにて約80分~120分
(12便/日 ¥1,800)

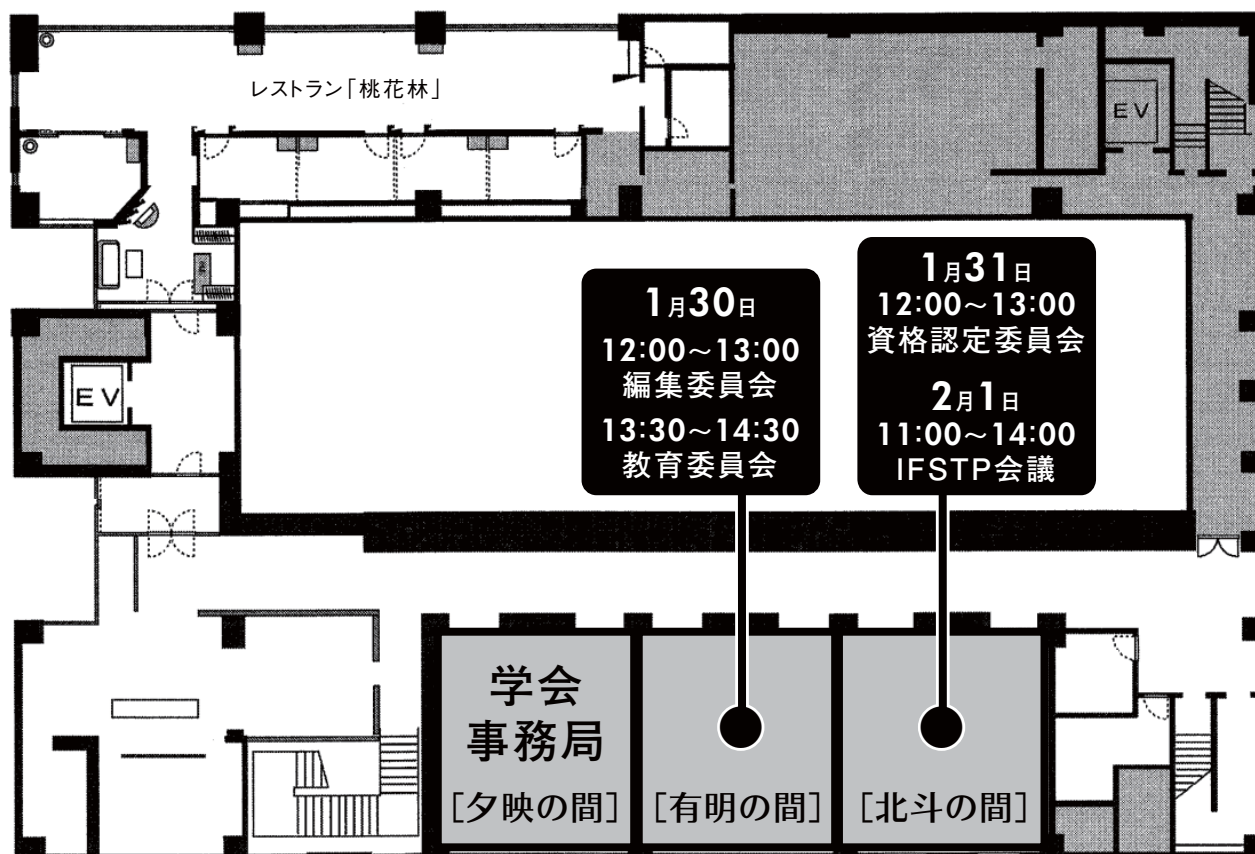


会場平面図

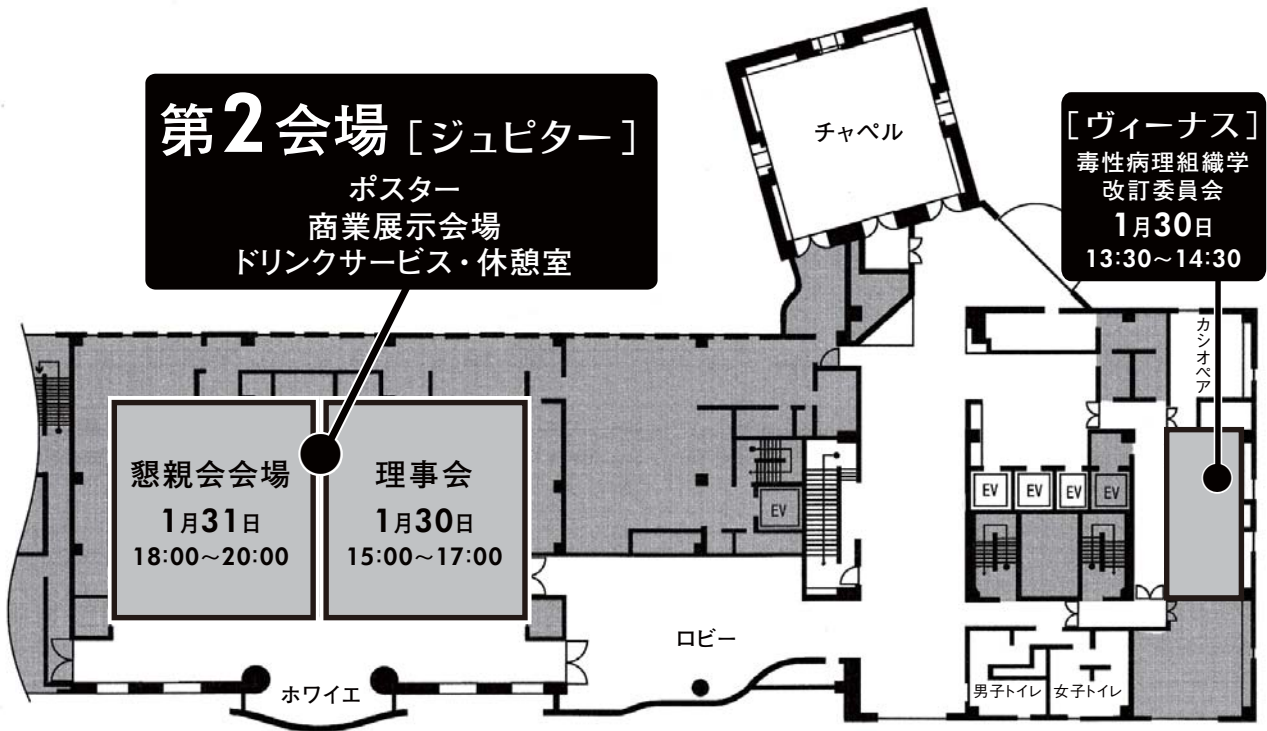
□ オークラフロンティアホテル アネックス1階 『昴の間』



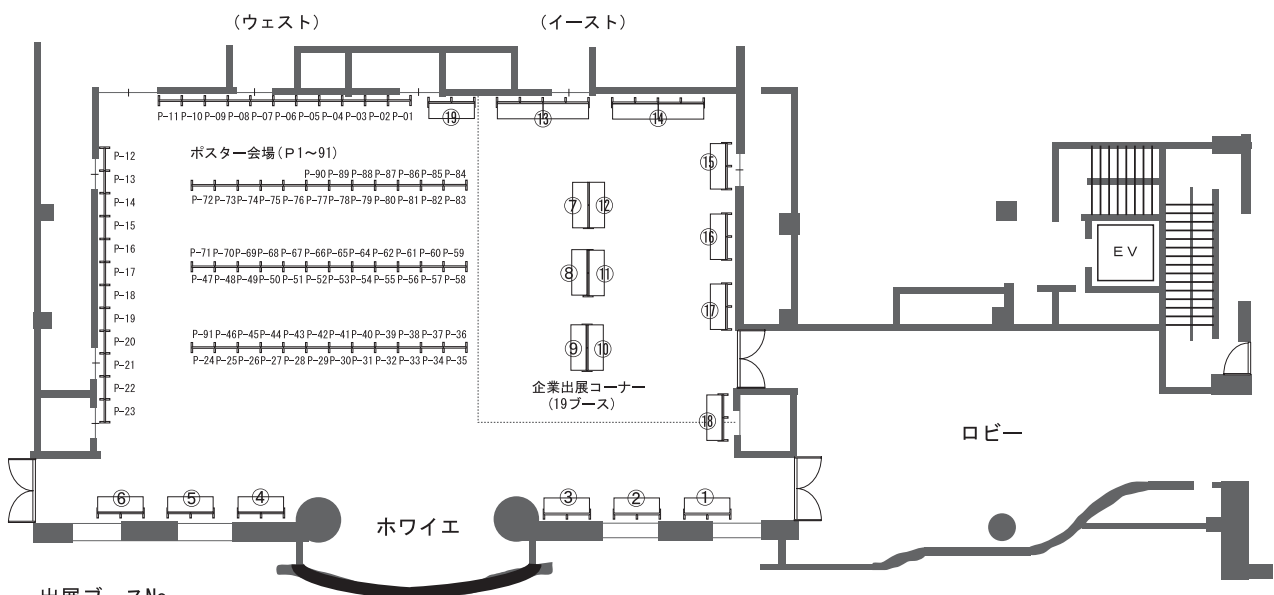
□ オークラフロンティアホテル アネックス2階 『有明の間』『北斗の間』『夕映の間』



□ オークラフロンティアホテル 本館3階 『ジュピター』『ヴィーナス』



『ジュピター』ポスター展示



出展ブースNo

- | | | |
|--------------------|------------------|----------------------|
| ① 日本エスエルシー(株) | ⑦ 株式会社化合物安全性研究所 | ⑬ 株式会社メディアサービス |
| ② 株式会社ヴィジョンズ | ⑧ 株式会社ケーエーシー | ⑭ コーヴァンス・ジャパン(株) |
| ③ 株式会社エイチ・アンド・ティール | ⑨ 白井松器械(株) | ⑮ 日本チャールス・リバー(株) |
| ④ 株式会社組織科学研究所 | ⑩ 株式会社ポゾリサーチセンター | ⑯ 株式会社DIMS医科学研究所 |
| ⑤ 浜松ホトニクス(株) | ⑪ 富士通(株) | ⑰ サクラファインテックジャパン(株) |
| ⑥ 倉敷紡績(株) | ⑫ 日本クレア(株) | ⑱ ハーランラボトラリーズジャパン(株) |
| | | ⑲ アピリオテクノロジーズ(株) |

□ ノバホール

JSTP/NTPサテライトシンポジウム 第25回日本スライドカンファレンス
 試験問題解説 IATPレクチャー

参加者への御案内

□ 参加者の方へ

1. 総合受付は1月31日(木)・2月1日(金) 両日とも午前8:00からオークラフロンティアホテル アネックス1階『昴(スバル)』ロビーにて行います。
2. 事前登録者はあらかじめ講演要旨集とともに送付された参加証(ネームカード)を持参し、会期中は必ず着用ください。ネームホルダーは総合受付にご用意いたしますので、ご利用ください。
なお、ネームホルダーは大会終了後に総合受付までご返却下さいますよう、お願いします。
3. 当日参加者は「当日参加申込書」に必要事項を記入の上、「当日参加受付」にて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
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31日(木) 8:30~18:00
2月1日(金) 8:30~17:00
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。オークラフロンティアホテルつくば アネックス1階『昴(スバル)』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(オークラフロンティアホテル アネックス1階『昴(スバル)』)までお越しください。

受付時間：1月31日(木) 9:00~17:00 2月1日(金) 9:00~15:00

□ 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、茨城での第29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 三森 国敏

日 時：平成25年2月1日(金) 14：45～16：00

会 場：オークラフロンティアホテル アネックス1階『昴(スバル)』

議 題：平成24年度活動報告及び決算報告

平成25年度活動計画及び予算

役員改選

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31日) 18：00からオークラフロンティアホテルつくば 本館3階『ジュピター』にて開催します。
2. 事前登録制ですが、当日総合受付にて若干名を懇親会費 9,000円(学生7,000円)で申し受けます。定員に達した場合は締め切る場合がございます。予めご了承ください。

□ ランチョンセミナーの御案内

1. 1月31日(木)・2月1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25年1月31日(木) 12：00～13：00

(オークラフロンティアホテルつくば アネックス1階『昴(スバル)』)

「マウス長期発癌試験における腫瘍標的臓器を考える」

演者：岩田 聖 先生(ハーランラボラトリーズスイス)

座長：高橋 道人(病理ピアレビューセンター)

協賛：ハーランラボラトリーズジャパン株式会社

- ランチョンセミナー 2

平成25年2月1日(金) 11：55～12：55

(オークラフロンティアホテルつくば アネックス1階『昴(スバル)』)

「Are environmental chemicals causing a decline in human reproductive health?」

演者：Dianne 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

2. ランチョンセミナーのチケットは、オークラフロンティアホテルつくば アネックス1階『昴(スバル)』の前にてセミナー開催日の8：30より配布します。

座長の先生方へ

1. 来館されましたら、総合受付（オークラフロンティアホテル アネックス1階『昴（スバル）』ホワイエ）に必ずお越しください。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、2月1日（金）13:00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（オークラフロンティアホテル 本館3階「ジュピター」前）にお越しください。指示棒（演者分含む2本）、座長用リボン（赤色）をお渡しします。討論時間には参加証（ネームカード）の他に、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

□ 特別口演・シンポジウム・一般口演の発表者の先生方へ

1. 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（アネックス1階 講演会場前）にご持参ください。パソコンを持込みの方はPCデータ受付後、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。

2. 発表時間

一般演題は発表8分、質疑4分の計12分です。

セッション名	講演時間	討論時間	予告ランプ
一般口演	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

3. パソコン発表のみとさせていただきます。スライドプロジェクターの用意はございません。パソコン発表に際しては、下記の点にご注意ください。

4. 前演者の発表が始まりましたら、次演者席にお着きください。

5. その他

演台上にはモニター、キーボード、ワイヤレスマウスを用意させていただきます。発表は、演壇におかれたパソコン画面を見ながら、ご自信で画面操作をしてください。

会場内にスクリーンが2面用意されております。マウスのカーソルをポインターとしてご使用下さい。また、外国人の参加を配慮して発表内容のパワーポイント作成に当り、できれば和文に加え英語を併記していただくと助かります。

【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) データ持込みの方の場合は事務局にて、データを完全消去させていただきます。

【Macintosh】

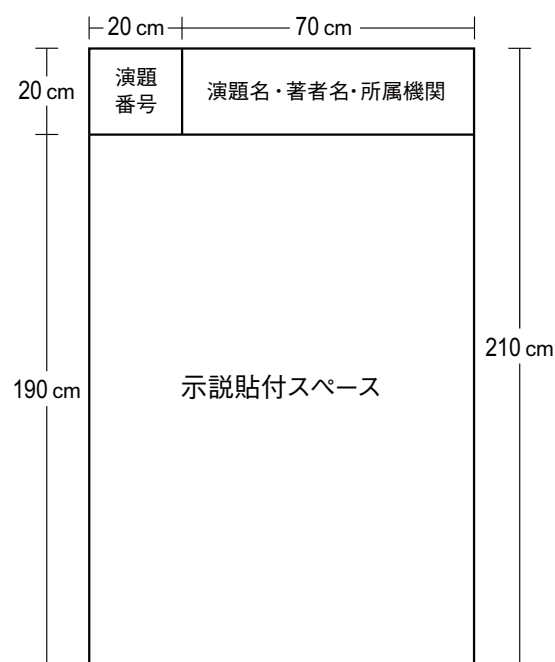
- 1) ご自身のPCをご持参ください。
- 2) メディアでのデータの持込みはできません。

WindowsPCおよびMacintoshPCをお持込みの際のご注意点

- 1) モニタの出力端末は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。)
2. 貼付の際は、本館3Fポスター会場受付へ到着の旨をお知らせください。
3. 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。
4. ポスター発表1日目 (1月31日(木)) の15:30以降に、ポスターパネルを一時的に移動いたしますので、
発表者は各自のポスター周囲に私物を置かないようご注意ください。



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分で発表5分、質疑応答3分となっております。 時間厳守をお願いします。

発表日時	受付・貼付	発表・質疑応答	撤去
1月31日(木)	全ポスター 1月31日(木) 9:00~10:00	13:20~13:44 P01-P03 13:20~13:52 P08-P11, P16-P19 P24-P27, P32-P35 P40-P43 13:55~14:27 P04-P07 14:00~14:32 P12-P15, P20-P23 P28-P31, P36-P39 14:05~14:37 P44-P46, P91	全ポスター 2月1日(金) 15:00~16:30
2月1日(金)		10:30~10:54 P47-P49, P54-P56 P84-P86 10:30~11:02 P61-P64, P68-P71 P76-P79 11:05~11:37 P50-P53, P57-P60 P87-P90 11:10~11:34 P65-P67 11:10~11:42 P72-P75, P80-P83	

日程表

1月29日(火)		1月30日(水)																																			
ノバホール	アネックス2F [有明の間]	第2会場 本館3F [ジュピター]	本館3F [ヴィーナス]	ノバホール																																	
9:00																																					
					10:00				10:00 日本毒性病理専門家 認定試験における 「試験問題解説」																												
									11:00				11:00																								
													12:00				11:15 第25回スライド カンファレンス																				
																	13:00				12:00 12:00																
																					14:00				12:15 12:15 昼食												
																									15:00				13:00 13:00								
																													16:00				13:30 13:30 毒性病理 組織学 改訂委員会				
																																	17:00				14:30 14:30
																																					18:00
18:50				17:00 17:00																																	
								17:30 17:30 第25回スライド カンファレンス																													
												17:45 17:45 IATP レクチャー																									
																18:45 18:45																					
																				19:00 19:00 実験動物 病理標本 交見会幹事会																	
																								21:00 21:00													

日程表

1月31日(木)			2月1日(金)		
第1会場 アネックス1F [昴の間]	第2会場 本館3F [ジュピター]	アネックス2F [北斗の間]	第1会場 アネックス1F [昴の間]	第2会場 本館3F [ジュピター]	アネックス2F [北斗の間]
8:00~総合受付開始 9:00	8:30 開場 9:00		8:30 開場 9:00	8:30 開場 9:00	
一般口演 O-01~O-08	ポスター貼付 10:00 10:00		一般口演 O-12~O-17	ポスター閲覧 10:20	
10:40				10:30 10:30	
11:00 10:50	ポスター閲覧 11:50			ポスター発表 11:50	11:00
特別講演 Robert R. Maronpot 座長：原田 孝則 11:50					
12:00 12:00		12:00	11:55		IFSTP 会議
ランチョン セミナー1 ハーランラボラトリー ジャパン 13:00		資格認定 委員会	ランチョン セミナー2 ハンティンドンライフ サイエンス 12:55		
	13:20 13:20	13:00	13:00	ポスター閲覧	
	ポスター発表		シンポジウム2 座長：渋谷 淳 寺西 宗広		14:00
14:00	14:40 14:40		14:40		
15:00 14:45	ポスター閲覧 15:30		14:45	15:00 15:00	
一般口演 O-09~O-11 15:25			評議員会・総会		
15:30				ポスター撤去	
16:00 17:00			16:00 16:00~ 会長賞授与 16:15~ 閉会の辞		
シンポジウム1 座長：中江 大 小川久美子				16:30	
17:30					
18:00	18:00 懇親会 20:00				

協賛法人・企業一覧

第29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29回日本毒性病理学会総会及び学術集会
年会長 原田 孝則

□ 協 賛

有限会社アグロトックス
旭化成ファーマ株式会社
アステラス製薬株式会社
アスピオファーマ株式会社
石原産業株式会社
大塚アグリテクノ株式会社
北山ラベス株式会社
杏林製薬株式会社
協和発酵キリン株式会社
ケイレックステクノロジー株式会社
株式会社札幌総合病理研究所
三栄源エフ・エフ・アイ株式会社
参天製薬株式会社
一般財団法人 残留農薬研究所
株式会社三和化学研究所
公益財団法人 食品農薬品安全性評価センター
株式会社新日本科学
住友化学株式会社
株式会社スリーエス・ジャパン

第一三共株式会社安全性研究所
大成温調株式会社
大日本住友製薬株式会社
大鵬薬品工業株式会社
武田薬品工業株式会社
田辺三菱製薬株式会社
中外製薬株式会社
帝人ファーマ株式会社
日産化学工業株式会社
日生研株式会社
日本たばこ産業株式会社 医薬総合研究所
日本農薬株式会社
日本ベーリンガーインゲルハイム株式会社
ハムリー株式会社
三井化学アグロ株式会社
三菱化学メディエンス株式会社
Meiji Seika ファルマ株式会社
株式会社リバー

□ 共催セミナー

ハーランラボラトリーズジャパン株式会社

ハンティンドンライフサイエンス株式会社

□ 機器展示

アピリオテクノロジー株式会社
株式会社ヴィジョンズ
株式会社エイチ・アンド・ティー
株式会社化合物安全性研究所
倉敷紡績株式会社
株式会社ケーエーシー
コーヴァンス・ジャパン株式会社
サクラファインテックジャパン株式会社
白井松器械株式会社
株式会社組織科学研究所

株式会社DIMS医科学研究所
日本エスエルシー株式会社
日本クレア株式会社
日本チャールス・リバー株式会社
ハーランラボラトリーズジャパン株式会社
浜松ホトニクス株式会社
富士通株式会社
株式会社ボゾリサーチセンター
株式会社メディアサービス

□ 広 告

倉敷紡績株式会社
株式会社ケーエーシー
コーヴァンス・ジャパン株式会社
株式会社シミックバイオリサーチセンター

日本クレア株式会社
ハーランラボラトリーズジャパン株式会社
日立工機株式会社

□ ネームホルダー

株式会社イナリサーチ

(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)	1986.2.7-8	1	5	29
3	名古屋	伊東 信行(名古屋市立大)	1987.2.6-7	1	8	47
4	浜松	榎本 眞(安評センター)	1988.2.5-6	1	7	55
5	横浜	蟹沢 成好(横浜市立大)	1989.1.27-28	1	6	53
6	札幌	板倉 智敏(北海道大)	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)	1992.1.23-24	1	19	71
9	東京	土井 邦雄(東京大)	1993.1.21-22	2	4	126
10	広島	伊藤 明弘(広島大)	1994.1.27-29	1	18	136
11	大阪	佐久間貞重(大阪府立大)	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)	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)	2000.1.26-27	1	12	125
17	淡路	奈良間 功(摂南大)	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)	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)	2007-1.30-31	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

* 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31日	10:50~11:50	特別講演	原田 孝則	一般財団法人残留農薬研究所	第1会場 「昴の間」 アネックス1階
1月31日	15:30~17:30	シンポジウム 1	中江 大	東京都健康安全研究センター	
			小川久美子	国立医薬品食品衛生研究所	
2月1日	13:00~14:40	シンポジウム 2	渋谷 淳	東京農工大学大学院農学研究院	
			寺西 宗広	第一三共株式会社 安全性研究所	
1月31日	9:00~ 9:50 (O-01~O-05)	一般演題 I 口演	バイオマーカー	大石 裕司 アステラス製薬株式会社 福田 良 武田薬品工業株式会社	
	9:50~10:40 (O-06~O-08)		モデル動物・神経	中山 裕之 東京大学 細川 暁 エーザイ株式会社	
	14:45~15:25 (O-09~O-11)		新規試験法	今井田克己 香川大学	
2月1日	9:00~ 9:40 (O-12~O14)	一般演題 II 口演	幹細胞	代田 欣二 麻布大学	
	9:40~10:20 (O-15~O-17)		代替法・モデル動物	古川 賢 日産化学工業株式会社 生物科学研究所	
1月31日	13:20~13:44 (P-01~P-03)	ポスター発表 I	肝	渡邊 厚 旭化成ファーマ株式会社	第2会場 「ジュピター」 本館3階
	13:55~14:27 (P-04~P-07)		腎	鈴木 雅実 中外製薬株式会社 富士御殿場研究所	
				下井 昭仁 株式会社イナリサーチ	
	13:20~13:52 (P-08~P-11)		前立腺	吉見 直己 琉球大学大学院	
				澤本 修 株式会社大塚製薬工場 研究開発センター	
	14:00~14:32 (P-12~P-15)		大腸	山口 格 協和発酵キリン株式会社	
				田川 義章 株式会社三和化学研究所	
	13:20~13:52 (P-16~P-19)		呼吸器	箱井加津男 大鵬薬品工業株式会社 徳島研究センター	
				河部 真弓 株式会社DIMS医学研究所	
	14:00~14:32 (P-20~P-23)		ナノマテリアル	小野寺博志 独立行政法人 医薬品医療機器総合機構	
				相磯 成敏 日本バイオアッセイ研究センター	
	13:20~13:52 (P-24~P-27)		毒性試験	林 新茂 三栄源エフ・エフ・アイ株式会社	
				岩崎 省吾 杏林製薬株式会社	
	14:00~14:32 (P-28~P-31)		神経	桑村 充 大阪府立大学	
				乾 公正 石原産業株式会社 中央研究所	
	13:20~13:52 (P-32~P-35)		系統差	今井 俊夫 独立行政法人 国立がん研究センター	
				星谷 達 株式会社ボゾリサーチセンター	
	14:00~14:32 (P-36~P-39)		免疫・骨髄	尾崎 清和 摂南大学	
鳥井 幹則 塩野義製薬株式会社 創薬・開発研究所					
13:20~13:52 (P-40~P-43)	症例	渋谷 一元 一般財団法人 日本生物科学研究所			
		平川 公昭 株式会社新日本科学			
14:05~14:37 (P-44~P-46、 P91)	症例・がん原性	涌生 ゆみ 三菱化学メディエンス株式会社			
		苗木 修 (独)医薬品医療機器総合機構			

日付	時間	セッション名	座長	所属	会場名	
2月1日	10:30~10:54 (P-47~P-49)	ポスター発表 II	肝	泉 啓介	徳島大学大学院・HBS研究部	第2会場 「ジュピター 本館3階」
	11:05~11:37 (P-50~P-53)		腎	鰐淵 英機	大阪市立大学大学院	
				梅村 隆志	国立医薬品食品衛生研究所	
	10:30~10:54 (P-54~P-56)		腎・膀胱	倉田 靖	Meiji Seikaファルマ株式会社	
	11:05~11:37 (P-57~P-60)		皮膚・乳腺	勝田 修	参天製薬株式会社	
				上田 誠	日本新薬株式会社 安全性・動態研究部	
	10:30~11:02 (P-61~P-64)		細胞周期・ シグナル伝達	高橋 智	名古屋市立大学大学院医学研究科	
				田中 卓二	東海細胞研究所 (TCI-CaRP)	
	11:10~11:34 (P-65~P-67)		in vitro	山手 丈至	大阪府立大学大学院	
	10:30~11:02 (P-68~P-71)		ナノマテリアル	吉田 緑	国立医薬品食品衛生研究所	
				佐藤 洋	富士フイルム株式会社 CSR推進部	
	11:10~11:42 (P-72~P-75)		毒性試験	志賀 敦史	公益財団法人 食品農医薬品安全性評価センター	
				柿本 恒知	日本たばこ産業株式会社	
	10:30~11:02 (P-76~P-79)		筋・動物愛護	岡崎 欣正	AnaPath GmbH	
				藤平 司郎	株式会社化合物安全性研究所	
	11:10~11:42 (P-80~P-83)		骨・筋・甲状腺	宮田かおり	住友化学株式会社 生物環境科学研究所	
				豊沢かおる	大日本住友製薬株式会社	
10:30~10:54 (P-84~P-86)	症例	藤原 利久	田辺三菱製薬株式会社 安全性研究所			
11:05~11:37 (P-87~P-90)	症例・発達毒性	金子 英志	帝人ファーマ株式会社			
		桑原 真紀	一般財団法人残留農薬研究所			

プログラム

特別講演

第1日目 1月31日(木) 10:50~11:50

第1会場 [アネックス1階 昴の間]

座長: 原田 孝則 (一般財団法人残留農薬研究所)

『The Role of the Toxicologic Pathologist in the Post-genomic Era』.....37

Dr. Robert R. Maronpot Raleigh, North Carolina

ランチョンセミナー 1

第1日目 1月31日(木) 12:00~13:00

第1会場 [アネックス1階 昴の間]

座長: 高橋 道人 (病理ピアレビューセンター)

協賛: ハーランラボラトリージャパン

『マウス長期発癌試験における腫瘍標的臓器を考える』

岩田 聖 ハーランラボラトリーズスイス

ランチョンセミナー 2

第2日目 2月1日(金) 11:55~12:55

第1会場 [アネックス1階 昴の間]

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

『Are environmental chemicals causing a decline in human reproductive health?』

Dr. Dianne Creasy Huntingdon Life Sciences

シンポジウム 1

第1日目 1月31日(木) 15:30~17:30

第1会場 [アネックス1階 昴の間]

座長：中江 大 (東京都健康安全研究センター)

小川久美子 (国立医薬品食品衛生研究所)

- SS-1-1 Transgenic Animals for Evaluation of Carcinogenicity 41
 ○Gary A. Boorman, DVM, PhD¹⁾, Victoria Laast²⁾
¹⁾Covance Laboratories Inc., Chantilly Virginia, USA,
²⁾Covance Pharmaceutical R&D (Shanghai) Co., Ltd., Shanghai, China
- SS-1-2 Contemporary NTP Toxicity and Carcinogenicity Testing Strategies. 42
 ○Susan A. Elmore, MS, DVM, DACVP, DABT, FIATP
 National Toxicology Program/National Institute of Environmental Health Sciences
- SS-1-3 Genomics Strategies in National Toxicology Program Toxicity and Carcinogenicity Testing. . . . 43
 ○Mark J. Hoenerhoff, DVM, PhD, DACVP
 Investigative Pathology Group, Cellular and Molecular Pathology Branch
 Division of the National Toxicology Program
 National Institute of Environmental Health Sciences
 National Institutes of Health
- SS-1-4 Regulatory Requirements, Advantages, Disadvantages, and Relevance of Dogs,
 Monkeys and Small Models in Toxicity Testing 44
 ○Klaus Weber, PhD, DVM, MSBiol
 AnaPath GmbH, Buchsweg 56, 4625 Oberbuchsitzen, Switzerland

シンポジウム 2

第2日目 2月1日(金) 13:00~14:40

第1会場 [アネックス1階 昴の間]

座長：渋谷 淳 (東京農工大学大学院農学研究院)

寺西 宗広 (第一三共株式会社 安全性研究所)

- SS-2-1 動物モデルによる環境応答研究の展開. 45
 ○山本 雅之
 東北大学 医学系研究科
- SS-2-2 免疫不全マウスを用いたヒト化肝臓モデルの開発 46
 ○末水 洋志
 公益財団法人 実験動物中央研究所
- SS-2-3 ゲノム毒性と幹細胞制御：毛の老化の謎に迫る 47
 ○西村 栄美
 東京医科歯科大学 難治疾患研究所 幹細胞医学分野
- SS-2-4 国際的動物実験代替法(3Rs)の新たな展開. 48
 ○黒澤 努
 大阪大学医学部
 (前日本動物実験代替法学会 会長)

一般口演 I

第1日目 1月31日(木) 9:00~10:40

第1会場 [アネックス1階 昴の間]

バイオマーカー

座長：大石 裕司 (アステラス製薬株式会社)

福田 良 (武田薬品工業株式会社)

- 01* 薬剤誘発性腎障害モデルラットを用いた尿、血液及び腎臓組織中の腎バイオマーカー検討 51
○桑田 和倫、中村 伊都子、井手 美佳、川井 康司、佐藤 寛子、西川 智美、田中 雅治
田辺三菱製薬(株) 研究本部 安全性研究所
- 02* シクロホスファミド誘発間質性肺炎における非臨床バイオマーカーとしてのSP-Dの有用性 . . . 51
○鈴木 倫、大須賀 勇、鈴木 勝也、安藤 稔、永田 百合子、畑 千恵、栃内 亮太、内田 和美、
小林 稔秀、角 将一、金子 公幸
(株)ヤクルト本社 中央研究所 安全性研究部
- 03 膀胱発がん物質の早期検出microRNAマーカーの検討 52
○魏 民、山野 荘太郎、加藤 実、藤岡 正喜、梯 アンナ、神吉 将之、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
- 04 ラット肺がんモデルにおける血清診断マーカー 52
○深町 勝巳¹⁾、大嶋 浩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

モデル動物・神経

座長：中山 裕之 (東京大学)

細川 暁 (エーザイ株式会社)

- 05* NASHモデル検討実験に使用したKK-A^yマウスの肝臓にみられた骨髄組織を伴う骨形成 53
○押方 孝文、菅野 剛、川迫 一史、可徳 小四郎、満石 三喜男、小林 梓、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
- 06* ラット多発性硬化症モデルの症状発現経過と病理組織学的解析 53
○菊地 聡美、仲野 善久、武内 隆志、宮内 慎、松本 茂樹、中尾 一成
持田製薬創薬研究所
- 07* Ptch1ヘテロノックアウトマウスにおけるソニックヘッジホッグ阻害剤Cyclopamineの
生後暴露による髄芽腫発生抑制作用 54
○松尾 沙織里¹⁾、高橋 美和¹⁾、井上 薫¹⁾、入江 かをる¹⁾、田村 圭¹⁾、小川 久美子¹⁾、西川 秋佳²⁾、
吉田 緑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
- 08 成熟ラットにおける神経毒性試験のための脳の採取方法(中枢神経系評価のコンセプト) 54
○Maslej Peter、Boros Gábor
CiToxLAB Hungary Ltd.

一般口演 I

第1日目 1月31日(木) 14:45~15:25

第1会場 [アネックス1階 昴の間]

新規試験法

座長：今井田 克己 (香川大学)

- O-09* ラットにおける非遺伝毒性肝発がん物質と毒性フェノタイプを予測できる
遺伝子マーカーセットの探索.....55
○神吉 将之¹⁾、魏 民²⁾、梯 アンナ²⁾、山野 莊太郎²⁾、鱈淵 英機²⁾
¹⁾アステラス製薬(株) 安全性研究所、²⁾大阪市立大学 医学研究科 都市環境病理学
- O-10* *gpt delta*ラットを用いた2-AAFの肝発がん性および変異原性の包括的評価モデルの検討55
○奥村 真衣、魏 民、山野 莊太郎、藤岡 正喜、多胡 善幸、北野 光昭、鱈淵 英機
大阪市立大学大学院 医学研究科 都市環境病理学
- O-11* *gpt delta*ラットを用いた短期発がん物質検出モデルの開発56
○松下 幸平¹⁾、石井 雄二¹⁾、高須 伸二¹⁾、黒田 顕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

一般口演 II

第2日目 2月1日(金) 9:00~10:20

第1会場 [アネックス1階 昴の間]

幹細胞

座長：代田 欣二 (麻布大学)

- O-12* 6-propyl-2-thiouracil (PTU) のラット発達期暴露による甲状腺機能低下を介したニューロン・グリア発達障害に関連する遺伝子発現プロファイルの異なる脳部位での同定.....56
○白木 彩子^{1,2)}、赤根 弘敏¹⁾、齋藤 文代³⁾、赤堀 有美³⁾、今田中 伸哉³⁾、板橋 恵^{1,2)}、王 リユン¹⁾、大石 巧¹⁾、鈴木 和彦⁴⁾、三森 国敏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 毒性
- O-13* Dextran sulfate sodium (DSS) 誘発性大腸炎の粘膜修復過程における腸管上皮幹細胞の役割...57
○村井 厚子¹⁾、平田 暁大²⁾、高松 学³⁾、久野 壽也³⁾、柳井 徳磨¹⁾、原 明³⁾
¹⁾岐阜大学 大学院連合獣医学研究科 獣医病理、²⁾岐阜大学 生命科学総合研究支援センター 動物実験、³⁾岐阜大学 大学院医学研究科 腫瘍病理
- O-14* マウス肺扁平上皮癌モデルにおける気管支肺胞幹細胞のcancer initiating cellとしての可能性...57
○山野 莊太郎、魏 民、藤岡 正喜、梯 アンナ、岡部 恭子、武下 正憲、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

代替法・モデル動物

座長：古川 賢 (日産化学工業株式会社 生物科学研究所)

- O-15 眼刺激性評価のための牛角膜を用いた混濁度および透過性試験法(BCOP法)一病理組織学的検査を中心に.....58
○古川 正敏¹⁾、六川 潤美¹⁾、榊原 隆史¹⁾、伊藤 浩太¹⁾、藤平 司郎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
- O-16* ミニブタの萎縮した精細管の比率及びライディッチ細胞の面積率.....58
○伊藤 格、鈴木 信介、松下 久美、吉島 賢一、小池 恒雄、矢吹 慎也、今井 順、木村 均
(株)日本バイオリサーチセンター
- O-17* NOD/Shi-scid, IL-2R γ nullマウスを用いたヒト甲状腺移植モデルの有用性.....59
○藤井 悦子¹⁾、Chen Yu Jau^{2,3)}、加藤 淳彦¹⁾、渡邊 剛¹⁾、加藤 千恵¹⁾、三好 昌夫¹⁾、林 修次¹⁾、松原 亨^{1,2,3)}、大西 保行⁴⁾、鈴木 雅実¹⁾
¹⁾中外製薬(株)、²⁾ファーマロジカルズ・リサーチ、³⁾中外ファーマボディ・リサーチ、⁴⁾(公財)実験動物中央研究所

ポスター発表 I

第1日目 1月31日(木) 13:20~14:40

第2会場 [本館3F ジュピター]

肝

座長：渡邊 厚（旭化成ファーマ株式会社）

- P-01 ラットにおける2-エトキシ-2-メチルプロパンの肝臓発腫瘍性機序の解明..... 63
○梯 アンナ¹⁾、萩原 昭裕²⁾、今井 則夫²⁾、魏 眠¹⁾、長野 嘉介³⁾、福島 昭治⁴⁾、鰐淵 英機¹⁾
¹⁾大阪市立大学 大学院医学研究科 都市環境病理学、²⁾DIMS医科学研究所、³⁾長野毒性病理学コンサルティング、
⁴⁾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
- P-02 チオアセトアミド(TAA)誘発ラット肝硬変におけるGST-P陽性と陰性病変における異なるマクロファージの出現..... 63
○Kavindra Wijesundera、井澤 武史、市川 智彩、Anusha Tennakoon、村上 宙、Hossain MD. Golbar、桑村 充、山手 丈至
大阪府大 獣医病理
- P-03* α -naphthylisothiocyanate (ANIT)により誘発したラットの急性と慢性胆管病変におけるマクロファージと筋線維芽細胞の特性比較..... 64
○Golbar Hossain M.、井澤 武史、市川 智彩、田中 美有、桑村 充、山手 丈至
大阪府立大学 獣医病理学教室

腎

座長：鈴木 雅実（中外製薬株式会社 富士御殿場研究所）
下井 昭仁（株式会社イナリサーチ）

- P-04 *gpt delta* マウスを用いた臭素酸カリウムの*in vivo*変異原性の検索とニトリロ三酢酸併用投与の影響..... 64
○石井 雄二¹⁾、木島 綾希¹⁾、高須 伸二¹⁾、松下 幸平¹⁾、黒田 顕¹⁾、児玉 幸夫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 毒性部
- P-05 合成抗菌剤ニトロフラントインの化学構造に依存した*in vivo*変異原性..... 65
○木島 綾希、石井 雄二、高須 伸二、松下 幸平、黒田 顕、小川 久美子、梅村 隆志
国立医薬品食品研究所 病理部
- P-06* Renin阻害によるOsborne-Mendelラットの腎糸球体足細胞障害抑制効果に関する研究..... 65
○坂下 悠¹⁾、安野 恭平¹⁾、荒木 さおり¹⁾、馬場 智成¹⁾、小林 亮介¹⁾、上家 潤一²⁾、代田 欣二^{1,2)}
¹⁾麻布大学 生物科学総合研究所、²⁾麻布大学 獣医学部 病理学研究室
- P-07* Puromycin aminonucleoside腎症ラットにおけるWT1陰性足細胞の評価..... 66
○菅原 豪¹⁾、若林 伸²⁾、檜村 茜²⁾、上家 潤一²⁾、代田 欣二^{1,2)}
¹⁾麻布大学 生物科学総合研究所、²⁾麻布大学 獣医学部 病理学研究室

前立腺

座長：吉見 直己（琉球大学大学院）

澤本 修（株式会社大塚製薬工場 研究開発センター）

- P-08 NADPH oxidase阻害剤apocyninによるラット前立腺発癌抑制効果66
○鈴木 周五^{1,2)}、佐藤 慎哉¹⁾、龍 訥¹⁾、Punfa Wanisa¹⁾、白井 智之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
- P-09* HDAC阻害剤OBP-801による前立腺癌予防作用の検討67
○佐藤 慎哉、鈴木 周五、内木 綾、龍 訥、白井 智之、高橋 智
名古屋市立大学大学院 医学研究科 実験病態病理
- P-10 中釜法PhIP投与による誘発前立腺発がんにおける去勢の修飾作用67
○杉江 茂幸¹⁾、田中 卓二²⁾
¹⁾朝日大学、²⁾東海細胞研究所
- P-11 PFA-AMeX法における組織形態保持と核酸品質の関係：LCM / DNA microarray analysisへの
応用68
○加藤 淳彦¹⁾、渡邊 剛¹⁾、Chen Yu²⁾、芦原 基起¹⁾、寺島 弘道¹⁾、水野 英明¹⁾、加藤 千恵¹⁾、
三好 昌夫¹⁾、林 修次¹⁾、足立 健児¹⁾、伊藤 恒夫¹⁾、松原 亨^{1,2)}、鈴木 雅実¹⁾
¹⁾中外製薬(株) 研究本部、²⁾PharmaLogicals Research Pte. Ltd.

大腸

座長：山口 格（協和発酵キリン株式会社）

田川 義章（株式会社三和化学研究所）

- P-12 マウス大腸陰窩上皮の遺伝子損傷刺激に対する応答68
○塚本 徹哉
藤田保健衛生大学 医学部 病理診断科
- P-13* カロリー制限食及び高脂肪食を投与したLETO及びOLETFラット肝臓及び大腸粘膜の
マイクロアレイ解析69
○高須 千絵、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
- P-14 Minマウスにおける大腸ポリープ発生に対する高脂肪食の影響69
○河部 真弓¹⁾、沼野 琢旬^{1,2)}、古川 文夫¹⁾、中島 弘尚¹⁾、田村 幸太郎³⁾、大石 裕司³⁾
¹⁾(株)DIMS医科学研究所、²⁾名古屋市立大学大学院医学研究科 分子毒性学分野、³⁾アステラス製薬(株)
- P-15* *gpt delta*マウスにおける高脂肪食摂取の自然発生遺伝子突然変異に与える影響70
○高須 伸二¹⁾、石井 雄二¹⁾、松下 幸平¹⁾、黒田 顕¹⁾、木島 綾希¹⁾、児玉 幸夫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 毒性部

呼吸器

座長：箱井加津男（大鵬薬品工業株式会社 徳島研究センター）
河部 真弓（株式会社DIMS医科学研究所）

- P-16* 胎生期Perfluorooctane sulfonate (PFOS) 暴露ラットの4-Methylnitrosamino-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) 誘発肺がんへの修飾に関する検討 70
○本橋 昌也¹⁾、和久井 信^{1,2,4)}、田中 勲¹⁾、白井 勝¹⁾、大山 典子³⁾、武藤 朋子³⁾、鷹橋 浩幸²⁾、羽野 寛²⁾、遠藤 仁⁴⁾
¹⁾麻布大学 獣医学部 比較毒性学研究室、²⁾東京慈恵会医科大学 病理学研究室、³⁾(株)薬物安全性試験センター、⁴⁾(株)ジェイファーマ
- P-17* マウス肺発がん過程におけるロサルタンの修飾作用の検討 71
○岡部 恭子、山野 荘太郎、魏 民、藤岡 正喜、謝 曉利、申田 昌彦、鱈淵 英機
大阪市大・院・医・都市環境病理学
- P-18 メチルアミンの13週間吸入曝露によるラット及びマウスの鼻腔病変 71
○高信 健司¹⁾、妹尾 英樹¹⁾、梅田 ゆみ¹⁾、片桐 卓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-19 メチルアミンの104週吸入曝露によるラット・マウスの鼻腔病変 72
○妹尾 英樹¹⁾、高信 健司¹⁾、梅田 ゆみ¹⁾、片桐 卓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

ナノマテリアル

座長：小野寺博志（独立行政法人 医薬品医療機器総合機構）
相磯 成敏（日本バイオアッセイ研究センター）

- P-20 ラットにおける多層カーボンナノチューブによる中皮腫誘発性に繊維長が及ぼす影響 72
○坂本 義光¹⁾、小縣 昭夫¹⁾、西村 哲治²⁾、広瀬 明彦³⁾、猪又 明子¹⁾、中江 大⁴⁾
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⁾帝京平成大学 薬学部、³⁾国立衛研 総合評価研、⁴⁾東京農大
- P-21 多層カーボンナノチューブ(MWCNT)の13週間吸入曝露によるラットの呼吸器毒性 73
○梅田 ゆみ、高信 健司、妹尾 英樹、片桐 卓、相磯 成敏、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
- P-22 多層カーボンナノチューブの肺ばく露2週間および52週間経過後の影響 73
○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⁾名古屋市立大学 津田特任研究室
- P-23 ナノ材料の吸入曝露後、長期間経過して発生するリスクの背景となる肺組織の検索 74
○二口 充¹⁾、徐 結苟²⁾、深町 勝巳¹⁾、津田 洋幸²⁾、酒々井 眞澄¹⁾
¹⁾名古屋市立大学大学院医学研究科 分子毒性学分野、²⁾名古屋市立大学 津田特任研究室

毒性試験

座長：林 新茂 (三栄源エフ・エフ・アイ株式会社)
岩崎 省吾 (杏林製薬株式会社)

- P-24* ラットを用いた3-MCPDエステル化合物の13週間亜慢性毒性試験 74
○大波 冴子¹⁾、Cho Young-Man¹⁾、豊田 武士¹⁾、吉田 緑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-25* F344ラットにおけるグリシドール脂肪酸エステルの13週間反復投与毒性試験 75
○豊田 武士¹⁾、Cho Young-Man¹⁾、大波 冴子¹⁾、水田 保子¹⁾、赤木 純一¹⁾、鈴木 勇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-26* 異なるフタル酸エステルのラットへの90日間併用混餌投与による肝臓と雄性生殖器への
影響の用量反応性 75
○鈴木 和彦¹⁾、谷合 枝里子^{2,3)}、盛田 怜子^{2,3)}、八舟 宏典^{2,3)}、三森 国敏⁴⁾、渋谷 淳²⁾
¹⁾東京農工大学 獣医毒性、²⁾東京農工大学 獣医病理、³⁾岐阜大学連合大学院、⁴⁾食品安全委員会
- P-27* *Coptis chinensis*のF344ラットを用いる90日間反復投与毒性試験および遺伝毒性試験 76
○Kim Myoung Jun¹⁾、Lee Yong-Hoon¹⁾、Kim Duyeol¹⁾、Park Sun Hee¹⁾、Lee Hye-Yeong¹⁾、
Lee Mi-Young¹⁾、Lee Mi Ju¹⁾、Han Beom Seok²⁾、Kwon Min²⁾、Sohn Woo Chan³⁾、
Seok Ji Hyeon⁴⁾、Lee Jong Kwon⁴⁾、Jeong Jayoung⁴⁾、Kang Jin Seok⁵⁾、Kang Jongkoo^{1,6)}
¹⁾Department of Pathology, Biototech Co. Ltd.、²⁾Hoseo University Biomedical Laboratory Science、
³⁾Asan Medical Center、⁴⁾Korea Food and Drug Administration、⁵⁾Namseoul University、
⁶⁾ChungBuk National University

神経

座長：桑村 充 (大阪府立大学)
乾 公正 (石原産業株式会社 中央研究所)

- P-28* 急性および反復経口投与神経毒性試験における病理学的変化の背景データ 76
○相馬 克実、高橋 尚史、嶋田 悠子、小山 彩、桑原 真紀、小松 豊、藤江 秀彰、元村 淳子、
首藤 康文、吉田 敏則、中島 信明、青山 博昭、原田 孝則
(一財) 残留農薬研究所
- P-29* クプリゾン投与マウスの脱髄及び再髄鞘化過程の超微形態学的解析 77
○中村 隆一、西村 友成、落合 忍仁、幸田 修一、小笠原 裕之
アスビオファーマ(株)
- P-30* グリシドールのラットへの28日間反復投与による海馬歯状回におけるニューロン新生に
対する影響 77
○赤根 弘敏¹⁾、齋藤 文代²⁾、白木 彩子^{1,3)}、赤堀 有美²⁾、今田中 伸哉²⁾、板橋 恵^{1,3)}、Wang Liyun¹⁾、
鈴木 和彦¹⁾、三森 国敏¹⁾、渋谷 淳¹⁾
¹⁾東京農工大学 獣医病理学研究室、²⁾化学物質評価研究機構 安全性評価技術研究所、
³⁾岐阜大学大学院 連合獣医学研究科
- P-31* Similar Expression Change of Midline1 on Neuronal Stem/Progenitor Cells Between
Developmental and Adult-stage Hypothyroidism in the Dentate Gyrus in Rats. 78
○Wang Liyun¹⁾、白木 彩子^{1,2)}、赤根 弘敏¹⁾、板橋 恵^{1,2)}、鈴木 和彦¹⁾、三森 国敏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

系統差

座長：今井 俊夫（独立行政法人 国立がん研究センター）
星谷 達（株式会社ボゾリサーチセンター）

- P-32 針状粒子TISMOの胸腔内投与による胸膜中皮細胞の反応性変化についてのマウス系統差 78
○横平 政直¹⁾、中野 裕子¹⁾、山川 けいこ¹⁾、岸 宗佑¹⁾、二宮 芙美子¹⁾、竿尾 光祐^{1,2)}、今井田 克己¹⁾
¹⁾香川大学 医学部 腫瘍病理学、²⁾回生病院 病理診断科
- P-33* DHPN誘発肺発癌における慢性炎症の影響
—F344ラットおよびWistar-Hannoverラットの系統差— 79
○中野 裕子¹⁾、横平 政直¹⁾、橋本 希¹⁾、山川 けいこ¹⁾、岸 宗佑¹⁾、二宮 芙美子¹⁾、竿尾 光祐^{1,2)}、
今井田 克己¹⁾
¹⁾香川大学 医学部 腫瘍病理学、²⁾回生病院
- P-34 Benzo[a]pyreneとDextran sulfate sodiumを用いたマウス大腸発がんモデルの研究：
マウス系統間比較 79
○園田 二郎¹⁾、武田 賢和¹⁾、羽倉 昌志¹⁾、小山 直己¹⁾、細川 暁¹⁾、関 由妃¹⁾、猪又 晃¹⁾、
中野 今日子¹⁾、太田 恵津子¹⁾、後藤 彩¹⁾、早川 和宏²⁾、朝倉 省二¹⁾、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-35 ラット卵胞の形成および発育における系統差の検索 80
○桑原 真紀、嶋田 悠子、相馬 克実、小山 彩、高橋 尚史、吉田 敏則、千葉 悠子、荒木 雅行、
中島 伸明、青山 博昭、原田 孝則
(一財)残留農薬研究所 毒性部 病理研究室

免疫・骨髄

座長：尾崎 清和（摂南大学）
鳥井 幹則（塩野義製薬株式会社 創薬・開発研究所）

- P-36* SDラットに自然発生性に認められた巨核球低形成の一例 80
○栃谷 智秋、岡村 啓史、豊沢 かおる、松本 泉美、河内 眞美、木村 重紀、船橋 斉
大日本住友製薬(株) 安全性研究所
- P-37* Capillaria hepatica実験感染モデルにおいて、Th2に偏向した宿主免疫はCG血症発症を
促進する 81
○山田 萌¹⁾、相原 尚之²⁾、樫村 茜²⁾、上家 潤一²⁾、代田 欣二¹⁾
¹⁾麻布大学 生物科学総合研究所、²⁾麻布大学 獣医学部 病理学研究室
- P-38* 組み換えヒトインターロイキン-2のラットを用いる4週反復静脈投与毒性試験 81
○Lee Mi Ju¹⁾、Park Sun Hee¹⁾、Kim Myoung Jun¹⁾、Kim Hye-Jin⁴⁾、Li Yinghua¹⁾、
Ko Kyeoung-Nam¹⁾、Kim Duyeol¹⁾、Lee Yong-Hoon¹⁾、Kim Sun-Hee¹⁾、Jang Ho-Song¹⁾、
Baik Yeongjun²⁾、Lee Sunghee²⁾、Kang Jin Seok³⁾、Kang Jong-Koo⁴⁾
¹⁾Department of Pathology, Biototech Co. Ltd., ²⁾BMI Korea、
³⁾Department of Biomedical Laboratory Science, Namseoul University、
⁴⁾College of Veterinary Medicine, ChungBuk National University
- P-39 Wistar hanラットにおける自然発生性胸腺腫 82
○岩田 聖^{1,2)}、Weber Klaus^{1,2)}、Gaehle Susan¹⁾、Anzai Takayuki¹⁾、Maraschiello Ciriaco¹⁾、
Henderson Wendy¹⁾
¹⁾Harlan Laboratories Ltd、²⁾AnaPath GmbH

症例

座長：渋谷 一元（一般財団法人 日本生物科学研究所）
平川 公昭（株式会社新日本科学）

- P-40 老齢牛眼症ウサギ4例の眼科検査と病理組織学的検討 82
○姚 玉林、勝田 修
参天製薬株式会社 眼科研究開発センター 安全性動態グループ
- P-41* C57BL/6系マウスにおける実験的自己免疫性ブドウ膜炎の眼病変の病理組織学的解析 83
○中原 豊、斉藤 直美、春日 敏郎、黒田 佳苗、串間 清司、能登 貴久、仲辻 俊二、松本 正博
アステラス製薬(株) 安全性研究所
- P-42* Hatanoラットにみられた自然発症性免疫介在性糸球体腎炎の1例 83
○安野 恭平¹⁾、小林 亮介¹⁾、坂下 悠¹⁾、荒木 さおり¹⁾、代田 真理子²⁾、上家 潤一³⁾、代田 欣二^{1,3)}
¹⁾麻布大学 生物科学総合研究所、²⁾麻布大学 獣医学部 比較毒性学研究室、³⁾麻布大学 獣医学部 病理学研究室
- P-43* 老齢B6C3F1マウスの腎糸球体におけるメサンギウム赤血球貪食に関する検討 84
○小林 亮介、山田 直明、爰島 洋子、土居 卓也、佐藤 順子、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

症例・がん原性

座長：涌生 ゆみ（三菱化学メディエンス株式会社）
笛木 修（(独)医薬品医療機器総合機構）

- P-44 NNK誘発マウス肺腫瘍結節内に認められた空胞に関する検討 -症例報告- 84
○山川 けいこ、岸 宗佑、二宮 芙美子、横平 政直、中野 裕子、今井田 克己
香川大学 医学部 腫瘍病理学
- P-45 胸腔および腹腔に多発したB6C3F₁マウスの中皮腫の1例 85
○細井 理代、志賀 敦史、長谷川 和成、宮島 留美子、植田 芳英、太田 泰史、高見 成昭、奈良間 功
(公財) 食品農医薬品安全評価センター 試験部 病理臨床検査室
- P-46* がん原性試験におけるICRマウスのアミロイドーシス発生状況及びアミロイドーシスと表皮剥離の関連 85
○霜山 奈津美、山口 裕子、西原 香織、中澤 朋美、工藤 佳代子、田村 一利、星谷 達
(株)ボゾリサーチセンター 病理部
- P-91* 医薬品のがん原性評価の方法について-ICH S1 EWGにおける検討内容 107
○野中 瑞穂¹⁾、小川 久美子²⁾、小野寺 博志¹⁾、中江 大³⁾、西川 秋佳²⁾
¹⁾(独)医薬品医療機器総合機構、²⁾国立医薬品食品衛生研究所、³⁾東京都健康安全研究センター

ポスター発表 II

第2日目 2月1日(金) 10:30~11:50

第2会場 [本館3F ジュピター]

肝

座長：泉 啓介 (徳島大学大学院・HBS研究部)

- P-47* マウスの肝腫瘍病変におけるCytokeratin8/18およびCytokeratin 19の発現解析 86
 ○串田 昌彦^{1,2)}、Peat Tyler J.¹⁾、Klaunig James E.¹⁾
¹⁾Department of Environmental Health, School of Public Health in Bloomington, Indiana University,
²⁾住友化学(株) 生物環境科学研究所
- P-48* PhenobarbitalとOrphenadrine併用投与によるラット肝発がんプロモーション作用の
 修飾に関する研究 86
 ○盛田 怜子^{1,2)}、八舟 宏典^{1,2)}、赤根 弘敏¹⁾、板橋 恵^{1,2)}、白木 彩子^{1,2)}、鈴木 和彦³⁾、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-49* ラット肝癌細胞におけるAcetaminophen誘導アポトーシスに対する
 細胞間コミュニケーションの関与 87
 ○内木 綾、朝元 誠人、加藤 寛之、白井 智之、高橋 智
 名古屋市立大学 大学院 医学研究科 実験病態病理学

腎

座長：鰐淵 英機 (大阪市立大学大学院)

梅村 隆志 (国立医薬品食品衛生研究所)

- P-50 ポリミキシンBの投与経路の違いによる腎毒性発現の差 87
 ○湯浅 敦子、丸山 裕子、梅屋 直久、日置 孝徳、佐藤 洋
 富士フィルム(株) 安全性評価センター
- P-51* マウスにおけるコリスチンメタンスルホン酸による腎毒性の経時的変化の病理学的検討 88
 ○吾郷 恭平¹⁾、倉田 靖¹⁾、伊藤 富美¹⁾、川村 祐司¹⁾、野本 眞博²⁾、土屋 敏行¹⁾、平塚 一幸¹⁾、
 鈴木 幸吉³⁾
¹⁾Meiji Seikaファルマ株式会社 医薬研究所 安全性研究室、
²⁾Meiji Seikaファルマ株式会社 医薬研究所 薬物動態研究室、³⁾Meiji Seikaファルマ株式会社 医薬研究所
- P-52* オクラトキシンAが誘発する発がん標的臓器、腎臓の*in vivo*変異原性、アポトーシスならびに
 カリオメガリーに対するp53欠損の影響 88
 ○日比 大介¹⁾、木島 綾希¹⁾、鈴木 裕太¹⁾、金 美蘭¹⁾、石井 雄二¹⁾、小西 良子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 衛生微生物部
- P-53* gpt deltaラットを用いたオクラトキシンAの欠失変異誘発メカニズムの解明 89
 ○黒田 顕¹⁾、渡辺 麻衣子²⁾、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⁾、
 能美 健彦³⁾、小川 久美子¹⁾、小西 良子³⁾、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 衛生微生物部、
³⁾国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター

腎・膀胱

座長：倉田 靖 (Meiji Seikaファルマ株式会社)

- P-54* 2型糖尿病モデルマウスの膀胱に認められた硝子滴に関する病理組織学的検索 89
○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
- P-55* ラット膀胱発がん物質DMA(V)のin vivo変異原性の検討 90
○藤岡 正喜、魏 民、山野 荘太郎、岡部 恭子、福永 賢輝、謝 暁利、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
- P-56 2-エトキシ-2-メチルプロパンのラット膀胱発がんプロモーション作用の有無について 90
○今井 則夫¹⁾、萩原 昭裕¹⁾、土井 悠子¹⁾、勝呂 繭子¹⁾、玉野 静光¹⁾、長野 嘉介²⁾、福島 昭治³⁾
¹⁾(株)DIMS医科学研究所、²⁾長野病理コンサルティング、³⁾中災防・日本バイオアッセイ研究センター

皮膚・乳腺

座長：勝田 修 (参天製薬株式会社)

上田 誠 (日本新薬株式会社 安全性・動態研究部)

- P-57 DMBA誘発ラット乳腺発がんに対する若齢期高脂肪食の影響 91
○今井 俊夫、打屋 尚章、高橋 真美
国立がん研究センター 研究所 動物実験支援施設
- P-58 グリシドール脂肪酸エステルによるラット乳腺腫瘍発生修飾作用の検討 91
○Cho Young-Man¹⁾、水田 保子¹⁾、豊田 武士¹⁾、大波 冴子¹⁾、赤木 純一¹⁾、鈴木 勇¹⁾、西川 秋佳²⁾、
小川 久美子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
- P-59 雌性F344ラットにおけるDHPNおよびDMBAの複合投与による乳腺腫瘍発生の影響 92
○岸 宗佑¹⁾、横平 政直¹⁾、中野 裕子¹⁾、山川 けいこ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⁾回生病院
- P-60* 高圧酸素環境下におけるマウス皮膚化学発がんへの影響 92
○堂口 裕士¹⁾、高松 玲佳¹⁾、片山 亮介²⁾、齊尾 征直¹⁾、吉見 直己¹⁾
¹⁾琉球大学大学院 医学研究科 腫瘍病理学講座、²⁾(株)武蔵野免疫研究所

細胞周期・シグナル伝達

座長：高橋 智（名古屋市立大学大学院医学研究科）
田中 卓二（東海細胞研究所(TCI-CaRP)）

- P-61* ラット二段階発がんモデルを用いた発がんプロモーション過程早期における細胞増殖、アポトーシス及び細胞周期関連分子の局在変化..... 93
○谷合 枝里子^{1,2)}、八舟 宏典^{1,2)}、盛田 怜子^{1,2)}、板橋 恵^{1,2)}、鈴木 和彦³⁾、三森 国敏⁴⁾、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、⁴⁾内閣府 食品安全委員会
- P-62* ラットを用いた異なる発癌標的臓器における発がん促進時早期での細胞周期関連分子の発現特性..... 93
○八舟 宏典^{1,2)}、谷合 枝里子^{1,2)}、盛田 怜子^{1,2)}、赤根 弘敏¹⁾、王 リユン¹⁾、鈴木 和彦¹⁾、三森 国敏³⁾、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⁾食品安全委員会
- P-64* Wntシグナルによる胃上皮細胞および胃癌細胞の分化・増殖制御に関する研究 94
○平田 暁大¹⁾、山田 泰広²⁾、富田 弘之³⁾、久野 壽也³⁾、村井 厚子⁴⁾、塚本 徹哉⁵⁾、山本 昌美⁶⁾、原 明³⁾
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⁾京都大学 iPS細胞研究所、³⁾岐阜大学大学院 医学研究科 腫瘍病理学分野、⁴⁾岐阜大学大学院 連合獣医学研究科、⁵⁾藤田保健衛生大学 医学部 病理診断科、⁶⁾日本獣医生命科 獣医学部 獣医保健看護学科 病体病理分野

in vitro

座長：山手 丈至（大阪府立大学大学院）

- P-65 可溶性VEGFR-3デコイとSATB1 siRNAのマウス乳癌に対する転移抑制作用の検討：
可溶性VEGFR-3デコイは乳癌転移を抑制した..... 94
○柴田 雅朗¹⁾、森本 純司²⁾、柴田 映子³⁾、藤岡 重和¹⁾、斯波 真理子³⁾
¹⁾大阪保健医療大学 保健医療学部 解剖学・病理組織学研究G、²⁾大阪医科大学 実験動物センター、³⁾国立循環器病研究センター研究所 病態代謝部
- P-66 アリルイソチオシアネート(AITC)暴露によるヒト乳癌細胞(MCF-7)におけるオートファジを伴った細胞死の誘導..... 95
○朝元 誠人、内木 綾、高橋 智
名古屋市立大学 大学院 医学研究科 実験病態病理学
- P-67* ヒト肺がん由来細胞株移植マウスの腫瘍組織における上皮-間葉転換..... 95
○山川 佳香¹⁾、能登 貴久¹⁾、小野 美穂子¹⁾、坪田 健次郎¹⁾、森 政道²⁾、上野 陽子²⁾、仲辻 俊二¹⁾、松本 正博¹⁾
¹⁾アステラス製薬(株) 研究本部 安全性研究所 毒性病理研究室、
²⁾アステラス製薬(株) 研究本部 薬理研究所 癌研究室

ナノマテリアル

座長：吉田 緑（国立医薬品食品衛生研究所）
佐藤 洋（富士フィルム株式会社 CSR推進部）

- P-68* 粒子径の異なるナノ白金のラット経皮投与による皮膚病変の違い.....96
○熊谷 文明¹⁾、白見 憲司¹⁾、丸茂 秀樹¹⁾、今野 和則¹⁾、吉岡 靖雄²⁾、堤 康央²⁾、斉藤 義明¹⁾、
桑形 麻樹子¹⁾
¹⁾(財)食品薬品安全センター 秦野研究所 毒性部、²⁾大阪大学大学院 薬学研究科 毒性学分野
- P-69* モンモリロナイトを主成分とするナノクレイのラットに対する13週間混餌投与の影響96
○鈴木 勇¹⁾、大波 冴子¹⁾、Cho Young-Man¹⁾、豊田 武士¹⁾、赤木 純一¹⁾、水田 保子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-70 γ -オリザノール/グリセロール併用投与が磁性ナノ粒子マグネタイト気管内スプレー投与による
ラット肺病変に及ぼす影響97
○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⁾、
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
- P-71 薬剤抵抗性癌細胞におけるP糖蛋白抗体によるクルクミン含有PLGA(ナノ粒子)の細胞取込み
および細胞毒性の増強97
○Punfa Wanisa¹⁾、Yodkeeree Supachai²⁾、Pitchakarn Pornsiri²⁾、Ampasavate Chadarat³⁾、
Limtrakul Pornngarm²⁾
¹⁾名古屋市立大学 大学院 医学研究科 実験病態病理学、²⁾チェンマイ大学 医学部 生化学、
³⁾チェンマイ大学 薬学部 薬理学

毒性試験

座長：志賀 敦史（公益財団法人 食品農医薬品安全性評価センター）
柿本 恒知（日本たばこ産業株式会社）

- P-72* ブドウ果皮抽出物の混餌投与によりみられたラット耳下腺・腺房上皮細胞における
変化について.....98
○井上 薫、高橋 美和、松尾 沙織里、田村 圭、森川 朋美、小川 久美子、吉田 緑
国立衛研 病理部
- P-73 ガティガムのラットにおける90日間混餌投与毒性試験98
○林 新茂¹⁾、Davis Jeffrey²⁾、Moser Glenda²⁾、Borghoff Susan²⁾、Giri Dipak²⁾、Maronpot Robert³⁾
¹⁾三栄源エフ・エフ・アイ(株)、²⁾Integrated Laboratory Systems, Inc.、³⁾Maronpot Consulting LLC
- P-74 RccHanTM:WISTラットの104週間飼育背景データ99
○永池 美香、土屋 成一郎、乾 公正
石原産業(株) 中央研究所 安全科学研究室
- P-75 1,1,1-トリクロロエタンの104週吸入暴露によるラット・マウスの発がん性99
○片桐 卓¹⁾、高信 健司¹⁾、妹尾 英樹¹⁾、梅田 ゆみ¹⁾、大西 誠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

筋・動物愛護

座長：岡崎 欣正 (AnaPath GmbH)

藤平 司郎 (株式会社化合物安全性研究所)

- P-76* 脳動脈瘤血管内塞栓術用コイルの脊柱傍筋内埋植試験時における組織学的検索法の比較検討..... 100
○磯部 厚志¹⁾、寺尾 壽子¹⁾、麻生 良平¹⁾、早場 純子¹⁾、田崎 雅子¹⁾、井上 知紀¹⁾、坂岡 篤¹⁾、蟹沢 成好²⁾、萩原 仁美¹⁾
¹⁾テルモ株式会社 研究開発本部 評価センター、²⁾横浜市立大学医学部
- P-77* 脳動脈瘤血管内塞栓用コイルの埋植試験から得られた長期試験実施時の知見と課題..... 100
○麻生 良平¹⁾、寺尾 壽子¹⁾、早場 純子¹⁾、磯部 厚志¹⁾、田崎 雅子¹⁾、井上 知紀¹⁾、坂岡 篤¹⁾、蟹沢 成好²⁾、萩原 仁美¹⁾
¹⁾テルモ株式会社 研究開発本部 評価センター、²⁾横浜市立大学医学部
- P-78* ラットの吸入麻酔薬(イソフルラン)、腹腔内投与麻酔薬(メデトミジン・ミダゾラム・ブトルファノール混合剤)の4週間反復投与による影響..... 101
○長谷川 也須子¹⁾、久保田 久代¹⁾、小林 健一¹⁾、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
- P-79* 発がん性試験における人道的エンドポイントの検討 101
○嶋田 悠子、相馬 克実、小山 彩、高橋 尚史、桑原 真紀、吉田 敏則、川勝 尚夫、瀧澤 芳夫、武田 眞記夫、高橋 研、首藤 康文、上田 英夫、中島 信明、青山 博昭、原田 孝則
一般財団法人残留農薬研究所 毒性部

骨・筋・甲状腺

座長：宮田 かおり (住友化学株式会社 生物環境科学研究所)

豊沢 かおる (大日本住友製薬株式会社)

- P-80* 骨器官培養法を用いた薬物誘発性骨細胞毒性の検討 102
○小島 康裕、二井 愛介、川上 詔夫、村松 大、南澤 由佳、北澤 郁恵、末廣 美紀、中島 真一
生化学工業(株) 中央研究所 安全性代謝研究室
- P-81* カテプシンK阻害剤およびビスホスホネート製剤のラットにおける骨組織への影響 102
○香川 雄輔¹⁾、久保田 恵¹⁾、南澤 由佳¹⁾、北澤 郁恵¹⁾、村松 大¹⁾、今井 恭子²⁾、中島 真一¹⁾、二井 愛介¹⁾
¹⁾生化学工業(株) 中央研究所 安全性代謝研究室、²⁾生化学工業(株) 中央研究所 薬理研究室
- P-82* Compound Xの回復性を示さない骨格筋障害..... 103
○谷本 友恵¹⁾、平尾 潤¹⁾、山口 崇¹⁾、後藤 真由美¹⁾、伊藤 和美¹⁾、新野 訓代¹⁾、甲斐 清徳¹⁾、森 和彦¹⁾、梶淵 紀子²⁾、寺西 宗広¹⁾、高崎 渉¹⁾
¹⁾第一三共(株) 安全性研究所、²⁾第一三共(株) 薬物動態研究所
- P-83* ラット甲状腺の増殖性病変におけるThyroid transcriptional factor-1の免疫組織化学；腫瘍診断における有用性..... 103
○見鳥 光、小野 美穂子、村上 雄一、竹内 文乃、井手 鉄哉、仲辻 俊二、大石 裕司、松本 正博
アステラス製薬株式会社 安全性研究所 毒性病理研究室

症例

座長：藤原 利久 (田辺三菱製薬株式会社 安全性研究所)

- P-84 SDラットの顎下唾液腺に自然発生した上皮筋上皮癌の1例 104
○Li Yinghua¹⁾、Kim Hak-Soo¹⁾、Kang Min-Soo¹⁾、Shin Seo-Ho¹⁾、Koo Kyo-Hwan¹⁾、
Kim Chul-Min¹⁾、Kim Kap-Ho¹⁾、Peck Charles¹⁾、Bae Han-Ik²⁾、Jeong Ji Yun²⁾、
Kang Jin Seok³⁾、Kang Boo-Hyon¹⁾
¹⁾Department of Pathology, Chemon Co. Ltd.,
²⁾Department of Pathology, Kyungpook National University Medical Center,
³⁾Department of Biomedical Laboratory Science, Namseoul University
- P-85* ラット前胃に認められた腺胃, 小腸, 膵外分泌組織を混じた異所性組織の1例 104
○加藤 祐樹、柏木 絵美、増野 功一、藤澤 可恵、松嶋 周一、高須 伸夫
塩野義製薬株式会社 創薬・開発研究所 安全性研究部門 病理グループ
- P-86* SDラットに自然発生した膵管もしくは胆管由来を疑う腺癌の1例 105
○武田 周二、宮田 かおり、山田 智也、串田 昌彦、緒方 敬子、菊本 裕子、奥田 優、川村 聡
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

症例・発達毒性

座長：金子 英志 (帝人ファーマ株式会社)
桑原 真紀 (一般財団法人残留農薬研究所)

- P-87* ラットEndometrial stromal sarcomaの多様性 105
○隈部 志野¹⁾、佐藤 順子¹⁾、友成 由紀¹⁾、橋本 知水¹⁾、高橋 美和²⁾、吉田 緑²⁾、土居 卓也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⁾国立医薬品食品衛生研究所 病理部
- P-88 Steroidogenic Factor-1により診断されたSprague-Dawleyラットにおける転移を伴う
副腎皮質腺癌の1例 106
○高井 有一、佐野 智弥、渡辺 武志、福田 良
武田薬品工業(株) 医薬研究本部 薬剤安全性研究所
- P-89* Busulfanに暴露されたラット胎児及び新生児の病理組織学的検索 106
○斎藤 翼、安藤 亮、大平 東子、池崎 信一郎、星谷 達、田村 一利
(株)ボゾリサーチセンター
- P-90* ラット悪性線維性組織球腫(MFH)由来の異なるクローン細胞株(MT-8とMT-9)の
免疫組織化学的及び網羅的遺伝子解析 107
○小寺 喬^{1,2)}、市川 智彩¹⁾、Tennakoon Anusha¹⁾、井澤 武史¹⁾、桑村 充¹⁾、越智 誠支²⁾、山手 丈至¹⁾
¹⁾大阪府立大学大学院 生命環境科学研究科、²⁾日本新薬(株) 安全性・動態研究部

講演要旨

特別講演

シンポジウム

一般口演

ポスター発表

特別講演

The Role of the Toxicologic Pathologist in the Post-genomic Era

Dr. Robert R. Maronpot

Raleigh, North Carolina

An era can be defined as a period in time identified by distinctive character, events, or practices. We are now in the genomic era.

The pre-genomic era

There was a pre-genomic era. It started many years ago with novel and seminal animal experiments, primarily directed at studying cancer. It is marked by the development of the two-year rodent cancer bioassay and the ultimate realization that alternative approaches and short-term animal models were needed to replace this resource-intensive and time-consuming method for predicting human health risk. Many alternative approaches and short-term animal models were proposed and tried but, to date, none have completely replaced our dependence upon the two-year rodent bioassay. However, the alternative approaches and models themselves have made tangible contributions to basic research, clinical medicine and to our understanding of cancer and they remain useful tools to address hypothesis-driven research questions. The pre-genomic era was a time when toxicologic pathologists played a major role in drug development, evaluating the cancer bioassay and the associated dose-setting toxicity studies, and exploring the utility of proposed alternative animal models. It was a time when there was shortage of qualified toxicologic pathologists.

The genomic era

We are in the genomic era. It is a time when the genetic underpinnings of normal biological and pathologic processes are being discovered and documented. It is a time for sequencing entire genomes and deliberately silencing relevant segments of the mouse genome to see what each segment controls and if that silencing leads to increased susceptibility to disease. What remains to be charted in this genomic era is the complex interaction of genes, gene segments, post-translational modifications of encoded proteins, and environmental factor that affect genomic expression. In this current genomic era, the toxicologic pathologist has had to make room for a growing population of molecular biologists. In this present era newly emerging DVM and MD scientists enter the work arena with a PhD in pathology often based on some aspect of molecular biology or molecular pathology research. In molecular biology, the almost daily technological advances require one's complete dedication to remain at the cutting edge of the science. Similarly, the practice of toxicologic pathology, like other morphological disciplines, is based largely on experience and requires dedicated daily examination of pathology material to maintain a well-trained eye capable of distilling specific information from stained tissue slides - a dedicated effort that cannot be well done as an intermezzo between other tasks. It is a rare individual that has true expertise in both molecular biology and pathology. In this genomic era, the newly emerging DVM-PhD or MD-PhD pathologist enters a marketplace without many job opportunities in contrast to the pre-genomic era. Many face an identity crisis needing to decide to become a competent pathologist or, alternatively, to become a competent molecular biologist. At the same time, more PhD molecular biologists without training in pathology are members of the research teams working in drug development and toxicology. How best can the toxicologic pathologist interact in the contemporary team approach in drug development, toxicology research and safety testing? Based on their biomedical training, toxicologic pathologists are in an ideal position to link data from the emerging technologies with their knowledge of pathobiology and toxicology. To enable this linkage and obtain the synergy it provides, the bench-level, slide-reading expert pathologist will need to have some basic understanding and appreciation of molecular biology methods and tools. On the other hand, it is not likely that the typical molecular biologist could competently evaluate and diagnose stained tissue slides from a toxicology study or a cancer bioassay.

The post-genomic era

The post-genomic era will likely arrive approximately around 2050 at which time entire genomes from multiple species will exist in massive databases, data from thousands of robotic high throughput chemical

screenings will exist in other databases, genetic toxicity and chemical structure-activity-relationships will reside in yet other databases. All databases will be linked and relevant information will be extracted and analyzed by appropriate algorithms following input of the latest molecular, submolecular, genetic, experimental, pathology and clinical data. Knowledge gained will permit the genetic components of many diseases to be amenable to therapeutic prevention and/or intervention. Much like computerized algorithms are currently used to forecast weather or to predict political elections, computerized sophisticated algorithms based largely on scientific data mining will categorize new drugs and chemicals relative to their health benefits versus their health risks for defined human populations and subpopulations. However, this form of a virtual toxicity study or cancer bioassay will only identify probabilities of adverse consequences from interaction of particular environmental and/or chemical/drug exposure(s) with specific genomic variables. Proof in many situations will require confirmation in intact *in vivo* mammalian animal models. The toxicologic pathologist in the post-genomic era will be the best suited scientist to confirm the data mining and its probability predictions for safety or adverse consequences with the actual tissue morphological features in test species that define specific test agent pathobiology and human health risk.

シンポジウム

1・2

SS-1-1 Transgenic Animals for Evaluation of Carcinogenicity

○Gary A. Boorman, DVM, PhD¹⁾, Victoria Laast²⁾

¹⁾Covance Laboratories Inc., Chantilly Virginia, USA,

²⁾Covance Pharmaceutical R&D (Shanghai) Co., Ltd., Shanghai, China

Two-year rodent carcinogenesis bioassay has been used to evaluate carcinogenetic potential of chemicals for decades. Some chemicals and prospective drugs demonstrate carcinogenic potential in rodents while many do not cause increased cancer rates even with two years of exposure. Most known human carcinogens cause cancer in one or more sex/species combination providing some confidence about the relevance of this test system. Generally, chemicals that do not increase tumors rates in rodents with long-term exposure are considered safe while those causing increased cancer rates are considered potentially hazardous. However, phenobarbital exposure increases liver tumors in both rats and mice while humans treated with phenobarbital for decades have no increase in tumors. There are many other examples of rodent specific carcinogens.

While two-year rodent carcinogenicity studies have been considered the gold standard for compound evaluation, these studies also have limitations. Rodent carcinogenicity studies take three or four years to complete, are costly and utilize hundreds of animals. More importantly considering the resources utilized, these studies provide very little information on potential mechanisms for tumor increases that may result in additional years of effort to determine potential human relevance of positive study findings.

Development of genetically modified rodents especially those with alterations found in pathways leading to cancer attracted the attention of the scientific community as an alternative to two-year rodent carcinogenesis bioassays. Hundreds of chemicals have been evaluated in 6-month transgenic mouse studies. More than twenty years of evaluating chemicals in transgenic mouse models and multiple symposia evaluating the results is leading to a greater understanding of which models best detect potential carcinogens. These models use fewer animals and reduce the, cost time to complete. The most widely used models are the RasH2, Trp53+/-, and Tg.AC models.

Scientists and regulatory agencies have become comfortable with transgenic models that may replace the mouse two-year bioassay. An emerging challenge is long-term toxicity and carcinogenicity evaluation of human proteins, gene products and other novel biologicals that offer promise for the treatment of human diseases. There is little experience on the relevance of two-year rodent for this newer types of therapeutics. This presentation provides an overview of the advantages and disadvantages of various bioassays. The newer emerging therapeutics that are increasing a part of the toxicologic pathologist daily routine will require that models to assess toxicity, potential carcinogenicity and risk assessment also evolve to meet this challenge.

SS-1-2 Contemporary NTP Toxicity and Carcinogenicity Testing Strategies

○Susan A. Elmore, MS, DVM, DACVP, DABT, FIATP

National Toxicology Program/National Institute of Environmental Health Sciences

The National Toxicology Program (NTP) was established in 1978 as a cooperative interagency federal resource designed to evaluate environmental agents of public health concern. To date, over 600 chronic studies have been performed as well as thousands of toxicology studies. The NTP uses rodent models for studies and protocols specifically designed to fully characterize the toxic potential of selected chemicals. The scope and types of studies performed are flexible and dictated to a large degree by the data needs for the specific test articles nominated for study. In addition to animal bioassays, genetic studies, chemical disposition and toxicokinetic studies as well as toxicogenomic studies are used to fully characterize the chemical effects. Some of the most recent NTP efforts and updates have occurred in the areas of 1) perinatal exposure, 2) neuropathology, 3) immunotoxicology, 4) reproductive and developmental studies, and 5) high throughput screening.

Toxicology/Carcinogenicity studies generally fall into three main categories: Fourteen day dose range-finding prechronic toxicity studies, 90-day subchronic bioassays to confirm doses for the chronic study and to determine potential organ toxicity, and 2-year toxicology and carcinogenesis studies. Perinatal exposure in the rat is one of the newest additions to these study protocols. Perinatal exposure occurs during gestation (in utero via the placenta) and lactation (via mother's milk). Since chemical exposure during the perinatal period occurs during critical periods of in-utero and postnatal development, this can result in differences in toxicity and/or carcinogenicity as compared to exposure starting only from adulthood.

The evaluation of reproductive toxicity is another focus of the NTP. Reproductive Assessment by Continuous Breeding (RACB) is a study that has been used by the NTP for over 15 years, and the design and endpoints have constantly evolved. This is a two-generation study, using mostly rats, and is designed to identify potential hazards and toxic effects on male and/or female reproduction, to characterize that toxicity, and to define the dose-response relationships for each compound. Developmental endpoints, lesions and malformations in offspring are also characterized. In 2011 the NTP began the pathology evaluation of tissues for RACB studies. The Modified One-Generation (MOG) studies were begun in 2012 and are primarily developmental studies that have evolved from the NTP's multi-generational RACB studies. These studies produce cohorts that may be used to populate 90-day, 2-year, immunotoxicity, neurotoxicity or RACB studies.

In 2007 the NTP began a focused "enhanced histopathology" evaluation of immunotoxicity studies. The testing strategies for immunology include tests for immunomodulation (studies of altered hematopoietic or immunologic events associated with exposure of humans and animals to chemicals) and hypersensitivity (studies of immune-mediated hypersensitivity resulting from exposure to environmental chemicals or therapeutics). Enhanced histopathology uses the evaluation of individual lymphoid organ compartments combined with descriptive rather than interpretive diagnostic terminology to report the lesions.

To improve our neuropathology evaluations, the number of sections of brain for routine histological evaluation was increased from 3 to 7 in 2012. There is now a focus on the correlation of brain anatomy with functional endpoints. The Functional Observational Battery (FOB) is also used when needed to evaluate various neurobehavioral and activity related parameters.

"Tox21" is the High Throughput Screening (HTS) Initiative that was begun in 2011 and is part of the NTP's new toxicology testing strategy. The HTS program approach to toxicological testing screens for mechanistic targets active within cellular pathways considered critical to adverse health effects such as carcinogenicity, reproductive and developmental toxicity, genotoxicity, neurotoxicity, and immunotoxicity in humans. The NTP recognized that the dramatic technological advances in molecular biology and computer science offered an opportunity to use in vitro biochemical- and cell-based assays and non-rodent animal models for toxicological testing. The goal of this initiative is to move toxicology from a predominately observational science to a predictive science focused on a broad inclusion of target-specific, mechanism-based, biological observations.

SS-1-3 Genomics Strategies in National Toxicology Program Toxicity and Carcinogenicity Testing

○Mark J. Hoenerhoff, DVM, PhD, DACVP

Investigative Pathology Group, Cellular and Molecular Pathology Branch
Division of the National Toxicology Program
National Institute of Environmental Health Sciences
National Institutes of Health

The development of toxicity or carcinogenicity in mammalian models following exposure to various compounds provides evidence that humans exposed to these or similar compounds may be at an increased health risk. While toxic and neoplastic lesions in rodents may be morphologically similar to those that may develop in humans, the underlying mechanisms of lesion development, including carcinogenesis, are often unknown and may be different between the species. Therefore, the relevance of an animal tumor response to a human health hazard should also consider their underlying comparative molecular pathogenesis. The molecular mechanisms of carcinogenesis are complex, and involve multiple genetic and epigenetic events. With a better understanding of the underlying mechanisms leading to a carcinogenic response, one may extrapolate a human health hazard from rodent bioassay data with greater confidence.

Genomic technologies provide a powerful tool to characterize the molecular changes that occur during toxicity and carcinogenesis. By evaluating changes across the genome of thousands of genes simultaneously, one can gain great insight into the major genetic pathways involved in a toxic or cancer response to chemical exposure. Cancer is a complex disease, involving the interplay between altered growth pathways, oncogenes, tumor suppressor genes, hormonal influences, and epigenetic factors, among others. Alteration in the expression of any of these pathways provides information on pathogenesis, targets for diagnosis or therapeutic intervention, in addition to providing information for the prediction of hazardous or carcinogenic substances. Mechanistic genomic strategies identify and define mechanisms of toxicity or tumorigenesis of hazardous exposures in rodent models, providing data on their potential effects in human populations.

Traditionally, the National Toxicology Program (NTP) evaluates compounds for their potential human carcinogenic risk through the rodent bioassay using pathology endpoints. Concurrent with the gold-standard pathology assessment, the Investigative Pathology Group in the Cellular and Molecular Pathology Branch investigates the molecular end points of carcinogenicity in the rodent bioassay for alterations in cancer genes and epigenetic events associated with human cancer. These include targeted and global gene expression profiling, global methylation and microRNA profiling, DNA mutation analysis, and protein expression analysis, retrospectively through tissue from the NTP rodent bioassay, or in in vitro model systems. These molecular studies have identified several genetic alterations in chemically induced rodent neoplasms that are important in human cancer, and have added value to the NTP bioassay by providing relevant comparative molecular endpoints that aid in risk assessment.

SS-1-4 Regulatory Requirements, Advantages, Disadvantages, and Relevance of Dogs, Monkeys and Small Models in Toxicity Testing

○Klaus Weber, PhD, DVM, MSBiol

AnaPath GmbH, Buchsweg 56, 4625 Oberbuchsitzen, Switzerland

Applied research and safety testing includes testing in genetics, developmental biology, biomedical research, xenotransplantation, drug and toxicology testing. For chemicals, a number of OECD guidelines determine the different test conditions including the appropriate test species (daphnia, enchytraeids, fish, bees, earthworm, rabbits, rodents, non-rodents etc).

The basics on testing for pharmaceuticals are ruled in directives and guidelines. For safety testing on pharmaceuticals, the choice of species is ruled namely in the M3 Guidance for Industry (Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals), ICH S4 (Duration of chronic toxicity testing in animals (Rodent and Non-Rodent Toxicity Testing)), ICH S1B (Testing for carcinogenicity of Pharmaceuticals), and ICH S6 Preclinical Safety Evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals.

All these guidelines define criteria on species requirements that can be summarized as a need in the most appropriate animal species gives the most important information. This information is obtained by short term mechanistic studies and should under classical conditions determine the appropriate species and dose for an oncogenicity study. The testing should be performed generally in a rodent and a non-rodent species. A long-term carcinogenicity study in two rodent species is still considered acceptable, whereby the rat is the species of choice, and the mouse or another rodent species could be justified.

An alternative is described in the ICH S1B regarding the short and medium term rodent assays when the data indicate that the alternative testing could provide information that is not likely obtained from traditional testing. Namely, the rasH2 model is currently under use. Other models are helpful in mechanistically explanations (Tg.AC, Pim1, XPA etc).

The conventional approaches may not be appropriate in testing biologicals that is mainly due to biological properties and structures, as well as species specificity. The standard test species are often not appropriate. The relevant species is one '...in which the test material is pharmacologically active due to the expression of the receptor or an epitope...'. For monoclonal antibodies, there should be a similar expression of the desired than for human tissues. For hormones, mediators or cytokines, the test item should be functionally active in the test species. It may be possible to justify the use of only one species for subsequent long-term toxicity studies. When no relevant species exists, the use of relevant transgenic animals expressing the human receptor is the alternative (e.g. for Alzheimer's disease, Sickle cell disease, Poliovirus etc.).

It should be considered, that the discussion of the appropriate strain models for toxicity studies in rodents and non-rodents is ongoing and published. Differing data on these strains, depending on their source, feed and housing conditions have been made available. Generally, before starting a toxicology program in rodents, it should be considered that long term and oncogenicity studies will be performed for the majority of compounds. Survival, body weight development, the incidence, type and time of onset of age-dependent lesions and neoplasms and some special considerations of the rodent and non-rodent strain selected may be decisive. Therefore, knowledge of the historical background data is needed. An overview on the most currently used rodent and non-rodent strains will be presented. The use of primates and transgenic animal models will be explained on examples.

SS-2-1 動物モデルによる環境応答研究の展開

○山本 雅之

東北大学 医学系研究科

私たちの体は、様々な環境の変化に応答して、適切なタイミングで生体防御酵素群を発現させる「しくみ」をもっており、体内のセンサー分子がストレスとなる環境情報を感知すると、これに適した生体防御酵素群の発現が誘導される。この事象の分子メカニズムを探る研究を通して、私たちは先に、生体が毒物や活性酸素に暴露された際には、解毒酵素・抗酸化酵素遺伝子の発現が転写因子Nrf2により抗酸化剤応答配列 (ARE) を介して誘導されること、一方、Keap1分子によりNrf2活性は恒常的に抑制されていることを発見した。

Nrf2は非常に代謝回転の速い蛋白質であり、この分解にはKeap1とCul3がユビキチン結合酵素 (E3) 複合体を形成して関与している。一方、親電子性分子や活性酸素はシステイン残基の修飾を介してKeap1を不活化する。その結果、Nrf2はKeap1による抑制から逃れて核移行し、解毒酵素や抗酸化酵素群の遺伝子発現を活性化する。すなわち、システイン残基修飾が環境からのストレスを遺伝子発現の制御へと繋いでいる(「システインコード」)。私たちはさらに、1分子のNrf2が分子内2カ所の結合部位を利用して2分子のKeap1 (ホモ2量体) に結合し、「蝶番と門 (Hinge-Latch)」を形成してセンサー機能を形成していることを発見した。また、このメカニズムをマウスとゼブラフィッシュを用いた遺伝学的解析とがん患者の臨床解析から実証した。

ところで、Nrf2およびKeap1の遺伝子欠失変異マウスの解析から、Keap1-Nrf2制御系が種々の疾患の病因に深く関与することが明らかとなった。また、Keap1やNrf2の体性変異が種々の癌細胞で高率に発見される。本研究により、外来異物あるいは活性酸素種に対する応答の基本原理の一端が解明され、それが個体の適応・応答機構において、また、疾患発症において、いかなる貢献を果たしているのかが明らかになるものと期待される。

【参考文献】 (Review) *Molecular mechanisms of the Keap1-Nrf2 pathway in stress response and cancer evolution.* Taguchi K, Motohashi H and Yamamoto M. *Genes Cells* 16, 123-140 (2011)

SS-2-2 免疫不全マウスを用いたヒト化肝臓モデルの開発

○末水 洋志

公益財団法人 実験動物中央研究所

肝臓は生体内で薬物代謝・解毒・排泄を行う中心的な臓器であり、創薬開発には欠くことのできない研究対象となっている。しかし、薬物代謝酵素の特性には種差があることから、マウス・ラット等のげっ歯類をヒトの代替動物として利用することには限界があった。また、チンパンジーやヒトなど一部の霊長類を宿主とする肝炎ウイルスの研究にもげっ歯類では十分に対応できず、マウス・ラットなど実験動物の有用性に限界を感じていた。このような問題を克服すべく開発されたヒト肝臓を個体レベル (*in vivo*) で持つ動物実験モデル (キメラマウス) は、今から10年も前に最初の報告がなされている。しかし、未だに一般の研究者が簡単に利用できるほど普及していないのが現状である。我々は1型単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ (HSVtk) 遺伝子を肝臓で特異的に発現する超免疫不全NOGマウス (TK-NOG) を作製し、ガンシクロビル (GCV) 投与によりマウス肝臓細胞が選択的に破壊される肝傷害モデルを確立した。この肝傷害マウスに市販の凍結ヒト肝臓細胞を脾臓から門脈経由で移植すると効率よく肝臓に定着した。再構築した“ヒト化肝臓”は免疫抑制剤などの薬物を投与すること無く維持され、血中のヒトアルブミンレベルは8ヶ月以上の長期にわたり安定して保持された。“ヒト化肝臓”を生化学的、分子生物学的、組織学的に解析したところ、成熟したヒト肝臓が示すような酵素の肝小葉内分布や網羅的遺伝子発現パターンだけでなく、薬物代謝プロファイルもヒト型を示すことから“ヒトの器官”として機能しているものと思われる。今後、薬物代謝、毒性研究、肝再生研究など、ヒト肝臓の生理機能を研究するための新たなプラットフォームとしてTK-NOGマウスを用いたヒト化肝臓マウスモデルが広く使われることを期待する。

SS-2-3 ゲノム毒性と幹細胞制御：毛の老化の謎に迫る

○西村 栄美

東京医科歯科大学 難治疾患研究所 幹細胞医学分野

多細胞生物は、加齢とともに組織の機能低下、再生能力の低下、器質的変化などの老化形質の発現を経て老化する運命にある。白髪や脱毛はほ乳類において最も目立つ老化形質であるが、どのようなメカニズムでこういった老化形質が発現するようになるのか、その仕組みについては十分に理解されていない。個体の寿命や早老症の発症に関わる分子やシグナルが次々と明らかにされてきた一方で、個々の組織や器官が加齢に伴い機能低下を示しつつ明らかな形態変化を示すようになる仕組みや、これに伴い多くの疾患が発症しやすくなる仕組みについては明らかにされていない。

近年の研究から多くの組織や臓器が幹細胞システムを形成し、組織の新陳代謝と恒常性維持を担っていること、組織幹細胞とニッチ、およびその制御が恒常性の維持において中心的な役割を果たしていることが明らかにされている。毛包は、毛を生やすことに特化した皮膚の小器官であり、ほ乳類において共通した構造を持っており、毛の生え変わりを可能にしている。我々は、マウスの毛包内に色素幹細胞をはじめとして同定し、黒髪のもととなる毛母の色素細胞の供給源として働くこと、この細胞が維持できなくなると毛が生え変わる際に白毛化を引き起こすことを明らかにしてきた。色素幹細胞は、加齢によって自己複製せずにニッチ内において異所性に分化することになること、その結果、幹細胞が枯渇し白髪になること、ゲノム毒性ストレスによりこの過程が促進されることを明らかにしている。ヒトにおいても同様にマウスの色素幹細胞に相当する細胞集団が存在し、加齢により減少することを見出している。ほ乳類においては加齢に伴って脱毛も見られるようになり、ヒト早老症やそのモデルマウスにおいては早発性の脱毛が見られる。ヒトやマウスで加齢により毛髪の量のみならず毛包の数自体も減少する。いったいどのような仕組みによりそのような変化がおこるのか、ゲノム毒性ストレスと皮膚の病理組織変化に着目し、その仕組みの一端を明らかにしたので紹介したい。

SS-2-4 国際的動物実験代替法(3Rs)の新たな展開

○黒澤 努

大阪大学医学部
(前日本動物実験代替法学会 会長)

動物実験代替法は動物実験を行う上での3Rsを基盤とした国際的なmustとなりつつある概念である。我が国では1980年代前半に京都大学医学部菅原努教授の発案で研究会が発足し、1989年には日本動物実験代替法学会が設立され、学会誌AATEXが1990年に創刊された。学会大会も毎年開催され、2012年第25回大会が東京で開催された。

日本動物実験代替法学会は世界動物実験代替法会議にも定期的に参加し、2007年には第6回世界動物実験代替法会議を東京に招致し開催した。また本会もその設立に協力したJaCVAM(日本動物実験代替法評価センター)はその後着々と業績を重ね、とりわけ国際的な活躍が顕著である。安全性試験の大本であるOECDのガイドラインへの我が国発の動物実験代替法の提案、さらにはICATM(International Cooperation on Alternative Test Methods)への加盟による情報交換に活躍している。

我が国では代替法の3RsのうちReplacementに関しては多くの研究者が参加し、新規試験法の開発が活発だが、Reduction, Refinementに関しては活躍は少ない。ここでは日本動物実験代替法学会が行った国際的活動ならびにJaCVAMが行った国際的情報収集の成果を今後の3Rsの展開予想も含め論ずる。

2010年は動物実験代替法に関して国際的に画期的な年となった。まずOIE(世界動物保健機関)は5月の総会で実験動物福祉綱領を国際標準として発表した。その内容は3Rsを基本とし、獣医学的ケアの重要性すなわちRefinementを強調した内容となっている。また10月には欧州でEUの実験動物保護法が議会を通過した。この内容はまずその本文の長さに目を引かれるが、実験動物保護のための動物実験規制法となっている。類人猿の実験を実質的に禁止し、霊長類の実験も相当の規制がある。重要な点は加盟各国に法律の制定を求め、2013年1月からの施行を指示している。この内容の厳しさは、これまで世界で最高に動物実験規制が厳しいとされた英国でさえ、その動物実験規制法(Animals (Scientific Procedures) Act)を改正しなければならなかったほどである。さらに米国は実験動物関係者のバイブルとされ、世界11ヶ国で翻訳されたILARの指針を14年ぶりに改訂し、2011年に発刊した。この指針は米国における公的資金を得るための前提であり、AAALAC International(国際実験動物ケア評価認証協会)の最重要参考書である。我が国でもAAALACの認証取得の動きが活発となっているのでその影響は大きい。この指針でも獣医学的ケア、すなわちRefinementが強調されている。さらにOECDは全身毒性試験のLD50を廃止しただけでなく、新しい動物実験代替法を承認している。眼刺激性試験(ドレーズ法)も2012年10月に再改訂しReplacementとRefinementが強調された。

一般口演要旨

O-01~O-17

O-01* 薬剤誘発性腎障害モデルラットを用いた尿、血液及び腎臓組織中の腎バイオマーカー検討

○桑田 和倫、中村 伊都子、井手 美佳、川井 康司、佐藤 寛子、西川 智美、田中 雅治
田辺三菱製薬(株) 研究本部 安全性研究所

【目的】近年、腎障害の早期検出を目的として、臨床、非臨床の場で腎バイオマーカー (BM) が利用されているが、尿、血液及び組織中の腎BMの変動を詳細比較した報告は少ない。今回我々はGentamicin (GM) 及びCisplatin (CDDP) 誘発ラット腎障害モデルにおける、尿、血液及び組織中の腎BMの変動を経時的に検討した。

【方法】6週齢の雄Crl:CD(SD)ラットにGM (240 mg/kg, 4日間反復), またはCDDP (5 mg/kg, 単回) を腹腔内投与した。投与開始翌日 (Day 2), Day 5及び12に剖検を行い、腎臓の組織学的検査、並びにKim-1, NGAL, Clusterin, Cystatin C及びβ2-microglobulin (β2MG)の免疫組織化学的検索を行うと共に、各時点の尿中及び血液中の腎BMを測定した。

【結果】〈Day 2〉GM投与群では特記すべき組織変化は認められなかったが、尿中NGAL, Cystatin C及びβ2MG, 並びに血液中β2MGの高値が認められた。CDDP投与群では尿細管上皮に核の変化が認められ、組織中Kim-1及びNGALの発現亢進、並びに尿中Kim-1の高値が認められた。〈Day 5以降〉両投与群ともに尿細管上皮の変性/壊死あるいは再生が認められ、組織中ではβ2MGを除く全ての腎BMに発現の変動が認められた。また、血液中のNGAL, Cystatin Cを除く全ての尿中及び血液中腎BMが明らかな変動を示した。

【まとめ】GM, CDDP両剤投与群ともに、明らかな組織傷害性の病理学的変化に先行してDay 2から各腎BMの変動が認められた。GM投与群では尿細管への再吸収が阻害されることで尿中排泄量が上昇するCystatin C及びβ2MGが、CDDP投与群では組織傷害に応じて尿細管での発現が亢進するKim-1が変動しており、前者の変動は機能障害、後者の変動は軽微な尿細管傷害を鋭敏に検出したものと考えられた。本実験結果は、異なる性質を有する複数の腎BMを用いることで、腎障害を早期に検出できるだけでなく、その変動パターンから毒性発現機序の推察に有用な情報が得られる可能性を示すものと考えられた。

O-02* シクロホスファミド誘発間質性肺炎における非臨床バイオマーカーとしてのSP-Dの有用性

○鈴木 倫、大須賀 勇、鈴木 勝也、安藤 稔、永田 百合子、畑 千恵、栃内 亮太、内田 和美、
小林 稔秀、角 将一、金子 公幸
(株)ヤクルト本社 中央研究所 安全性研究部

【背景】抗がん剤の副作用の一つである間質性肺炎 (IP) は、生命維持に関わる重要な毒性であるため、創薬の早期にその可能性を検出する必要がある。しかしながら、非臨床においては、IPを検出する有用なマーカーはほとんどないのが現状である。今回我々は、シクロホスファミド (CPA) で誘発したラットのIPと臨床でIPのマーカーとして使用されているSurfactant protein D (SP-D) および既存の肺傷害マーカーとの関係を評価した。

【方法】6週齢のラットにCPAを3週間腹腔内投与した後、10日間の休薬期間を設けた。CPA投与1週目、2週目、3週目、休薬7日目または休薬10日目に剖検を行い、肺の組織学的検査のほか、血中、肺胞洗浄液 (BALF) 中および胸水中のSP-D (ラット/マウスSP-Dキット「ヤマサ」EIA、ヤマサ醤油 (株))、血中の白血球数ならびにLDHについて測定した。

【結果】CPAの投与により、肺胞腔内へのマクロファージの浸潤、II型肺胞上皮細胞の増生および肺胞壁の肥厚が2週目より認められ、3週目にはこれらの変化はより顕著になった。血中およびBALF中のSP-Dは、病態の進行に伴って上昇あるいは上昇傾向がみられ、3週目では高値を示した。一方、胸水中SP-Dには変化はみられなかった。白血球数およびLDHについては、3週目まで白血球数の減少が認められ、LDHには変化が認められなかった。

【結論】血中およびBALF中のSP-Dは、II型肺胞上皮細胞の増生が盛んな亜急性期に上昇することが確認された。白血球数およびLDHについては、3週目の時点で肺傷害に関連した変化は認められなかった。これらのことから、血中およびBALF中のSP-Dは、白血球数およびLDHと比較して、抗がん剤投与によるラットのIPを感度良く検出できることが明らかになった。特に、血中SP-Dは解剖をすることなく経時的な採血が可能のため、低侵襲性の肺傷害検出マーカーになることが示唆された。

O-03 膀胱発がん物質の早期検出microRNAマーカーの検討

○魏 民、山野 莊太郎、加藤 実、藤岡 正喜、梯 アンナ、神吉 将之、鱈淵 英機

大阪市立大学大学院 医学研究科 都市環境病理学

【目的】近年、種々のがんにおいてmicroRNA (miRNA) の発現異常が報告され、がんの発生に関与することが明らかになっている。本研究では、膀胱発がん焦点を絞り、複数の膀胱発がん物質で誘発されたラット膀胱病変を対象とし、発がん性の早期検出マーカーとしてのmiRNAの同定を試みた。

【方法と結果】miRNA アレイを用いてN-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN) 誘発ラット膀胱がん (12例) と正常膀胱粘膜 (4例) におけるmiRNA発現プロファイリングを行った結果、正常粘膜と比較し、すべてのがんで共通して発現量が2倍以上低下したmiRNAが6種類認められた。そのうちmiR-125aおよびmiR-125bの2種類がDimethylarsinic acid (DMA) で誘発したラット膀胱がんにおいても発現量の有意な低下が認められた。さらに、ラットにBBN及びDMAを含めた8種類の膀胱発がん物質 (BBN, DMA, 2-acetylaminofluorene, sodium o-phenylphenol, phenethyl isothiocyanate, benzyl isothiocyanate, uracil)、あるいは3種類の非膀胱発がん物質 (diethylnitrosamine, N-ethyl-N-hydroxyethylnitrosamine, 1,2-dimethylhydrazine) をそれぞれ4週間投与した膀胱粘膜におけるmiR-125aおよびmiR-125bの発現量を検索した結果、両方ともすべての膀胱発がん物質において共通して発現量の有意な低下が認められた。一方、すべての非膀胱発がん物質では発現量の変動はみられなかった。

【結論】miR-125a及びmiR-125bは膀胱発がんにおいてtumor-suppressor miRNAとして働き、それらの発現低下がラット膀胱発がん過程の早期から関与することが示唆された。以上より、miR-125aおよびmiR-125bは膀胱発がん物質の検出に有用な新規miRNAマーカーであることが明らかとなった。

O-04 ラット肺がんモデルにおける血清診断マーカー

○深町 勝巳¹⁾、大嶋 浩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】これまでにCre/loxPシステムを用いた活性型HrasV12トランスジェニックラット (Hras250) においてCre recombinase発現アデノウイルスベクターを肺内に投与することにより肺がんを発生させる方法を確立した。また、膀胱がんを発生させたHras250ラットにおいて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がラット膀胱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、このラット肺がんモデルにおいてN-ERCが血清診断マーカーとなるか検討した。

【方法・結果】Hras250ラットにCreリコンビナーゼ発現アデノウイルスベクターを肺内へ噴霧し、変異型HrasV12遺伝子を発現させて肺がんを誘発した。ウイルス投与後の初期には組織学的に肺胞上皮および呼吸細気管支上皮の過形成、腺腫がみられた。注入4週後には肉眼的に肺に結節性病変が多数見られ、組織学的に肺胞上皮の過形成、腺腫、腺がんのみならず化学発がんでは発生させることが困難な扁平上皮がんもみられた。発生した肺がんにおいてErc/Mesothelin遺伝子が高発現していた。さらに、肺がんの発生したHras250ラットのN-ERCの血清中濃度を測定したところ、正常に比べ膀胱がんを発生したラットの血清中N-ERC濃度は、有意に上昇していた。

【結論】N-ERCがラット肺がん血清診断マーカーとなりうることが明らかとなった。ラット肺がんの血清診断が可能になれば抗がん剤等の開発、治療効果の検定に有用となる。

O-05* NASHモデル検討実験に使用したKK-A^yマウスの肝臓にみられた骨髄組織を伴う骨形成

○押方 孝文、菅野 剛、川迫 一史、可徳 小四郎、満石 三喜男、小林 梓、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】我々は、NASHモデル作出のために、高脂肪コリン欠乏アミノ酸 [CDAA(HF)] 飼料およびそれにコリンを付加した飼料 [CSAA(HF)飼料] をKK-A^yマウスに摂餌させる検討実験を行っている。これらの飼料をKK-A^yマウスに摂餌させると、肝臓に骨髄組織を伴う骨形成が認められる個体が散見される。本病変についての病理組織学的特徴および発生機序について詳細な検討を行ったので報告する。

【方法】7週齢の雄性KK-A^yマウスに通常飼料 (CRF-1)、CSAA(HF) 飼料またはCDAA(HF) 飼料を9~12週間摂餌させた。動物は、通常飼料群に21匹、CDAA(HF) 飼料群に26匹、CSAA(HF) 飼料群に22匹を使用した。摂餌期間終了後、解剖を行ない、肝臓の病理組織学的検査を実施した。

【結果】肝臓は肉眼的に褪色し、腫大していた。CRF-1飼料群では、20例で小葉中心性に肝細胞の小滴性の脂肪変性、一部の例で限局性の炎症性細胞浸潤が認められた。CDAA(HF) およびCSAA(HF) 飼料群では、これらの変化の程度が増強し、全例 (48例) で瀰漫性の炎症性細胞浸潤と肝細胞の小滴性ないし大滴性の脂肪変性が認められた。また、これらに加えて肝臓で骨形成が28/48例に認められた。骨組織は層板状構造で、内部に骨細胞を含み、骨組織に接するように配列する骨芽細胞も認められた。さらに、このうち15例で骨組織周囲に骨髄組織がみられ、そこには造血細胞に加え、肝臓の既存血管とは異なる血管構造も認められた。

【まとめ】骨組織については、CRF-1飼料群に見られず、炎症や肝細胞の脂肪変性の程度が増強したCDAA(HF) およびCSAA(HF) 飼料群で認められたことから、炎症や肝細胞の脂肪変性の増強に関連して形成されたものと考えられた。骨髄組織については、骨組織周囲に限局してみられたことから、骨形成に伴って生じている可能性が考えられた。今後、本病変の発生機序について更なる検討を加え報告する予定である。

O-06* ラット多発性硬化症モデルの症状発現経過と病理組織学的解析

○菊地 聡美、仲野 善久、武内 隆志、宮内 慎、松本 茂樹、中尾 一成
持田製薬創薬研究所

【目的】多発性硬化症 (MS) は中枢神経を侵す炎症性脱髄疾患であり、再発・寛解を繰り返す自己免疫疾患として知られている。病理組織学的には、はじめに中枢神経の小静脈周囲に単核細胞浸潤が認められ、その後脱髄が認められて病態が悪化していくと報告されている。臨床の病態を正確に反映した動物モデルは、多発性硬化症治療薬の開発に有用であることから、今回、より臨床病態に近い炎症および脱髄を誘発する実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) モデルを探索し、病理組織学的検討を実施した。具体的には、いくつかの系統、抗原及びその接種法について検討し、症状観察による麻痺の重篤度判定、病理組織学的解析を実施した。

【方法】ラットはLewis、Brown Norway (BN)、Dark Agouti (DA) の雌雄 (系統によっては片性のみ) を使用し、接種抗原はミエリン塩基性蛋白質 (MBP) またはミエリンオリゴデンドロサイト糖蛋白質 (MOG) を使用した。抗原は臍底皮下または尾基部皮下に単回接種した。麻痺の重篤度を症状観察によりスコアで判定し、発症後に動物を剖検した。剖検後、脊髄 (頸髄、胸髄、腰髄) を採取した。常法に従いパラフィン包埋切片を作製し、HE染色を施し、光学顕微鏡で観察した。脱髄の評価のためルクソールファーストブルー LFB染色を実施した。炎症細胞の種類の確認のため、抗CD3抗体および抗ED1抗体を用いた免疫組織化学的染色を実施した。

【結果】DAラット雌にMOGを臍底皮下に接種した条件のEAEモデルで、脊髄への広範な炎症細胞浸潤と脱髄が認められた。CD3陽性細胞は脊髄に散在性に分布し、ED1陽性細胞は脱髄領域に集簇して認められ、ミエリンの貪食が示唆された。この条件下では、慢性的持続的な麻痺の症状が認められた。高用量では再発寛解型の経過が認められ、症状発現経過においてもヒトのMSに近い経過をたどった。一方、その他の条件では、血管周囲の炎症細胞浸潤が主な所見で、脱髄性病変は極軽度であった。麻痺の症状は一過性であった。

O-07* Ptch1ヘテロノックアウトマウスにおけるソニックヘッジホッグ阻害剤Cyclopamineの生後暴露による髄芽腫発生抑制作用

○松尾 沙織里¹⁾、高橋 美和¹⁾、井上 薫¹⁾、入江 かをる¹⁾、田村 圭¹⁾、小川 久美子¹⁾、西川 秋佳²⁾、吉田 緑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] *Ptch1* encodes a receptor of Sonic Hedgehog (Shh), and is one of the major genes related to the formation of medulloblastoma (MB) in humans. The Shh signaling pathway is important for the development of not only cerebella but also MBs. MBs are derived from granule cell precursors in the external granular layer (EGL) of the developing cerebellum. Heterozygous *Ptch1* knockout (*Ptch1*) mice develop MBs that resemble human MBs with activation of Shh signaling pathway. This study was conducted to clarify the effects of postnatal treatment with cyclopamine, a hedgehog signaling inhibitor, on MB development in *Ptch1* mice.

[Materials and methods] *Ptch1* mice and wild-type littermates were dosed daily with cyclopamine at 40 mg/kg bw (sc) or vehicle from postnatal day (PND) 1 to PND14. Cerebella at PND14, 21 and postnatal week 12 (W12) were examined for histopathology and immunohistochemistry. Cerebella at PND7 were also examined for the effects of cyclopamine on development.

[Results] Proliferative lesions in the cerebellum, MBs and their preneoplastic lesions, were detected in *Ptch1* mice only. At PND14 and 21, cyclopamine treatment decreased the incidence and/or area of proliferative lesions. The decrease persisted at W12, but not significantly. At PND7, cyclopamine treatment reduced the width of EGL regardless of genotype. Ki-67 staining also revealed the decrease of proliferating cells in the EGL in the cyclopamine group at PND7.

[Discussion] These results indicate that postnatal treatment with cyclopamine has inhibitory potential on proliferation of EGL and MB development in *Ptch1* mice, and that this effect persisted.

O-08 成熟ラットにおける神経毒性試験のための脳の採取方法 (中枢神経系評価のコンセプト)

○Maslej Peter、Boros Gábor
CiToxLAB Hungary Ltd.

We are presenting practical methodology for neuropathological examination of the CNS in perfusion fixed adult rats. This methodology considers cost and time effectiveness; retention of structural integrity during brain removal; avoiding artifacts during processing; and consistent trimming with use of a brain matrix. Sectioning of the brain with a specific matrix is necessary for accurate and consistent brain sections. This presentation is focused on trimming details and specimen preparation for high quality neuropathological evaluation of coronal (cross) sectioning of the CNS. Each brain level is placed rostral surface down in the cassette and submitted for paraffin wax embedding as 6 μm sections. H&E staining is generally sufficient for recognition of neuropathological changes in the CNS. Areas represented within coronal sections provide a practical screen of rat brain, to recognize key structures when using rat brain stereotaxic atlas (Paxinos and Watson, 6th edition). If a compound is known or suspected to have neurotoxic or specific CNS site effects, the method of perfusion fixation for evaluation of the brain should be considered. Tissue samples for neurohistopathology are only taken from animals where the whole-body perfusion is considered to have been successful. Organs of the perfusion fixed animals are stored in the fixative for 48 hours. The brains are then carefully dissected out. The special techniques, such as recording changes of behaviour by Functional Observation Batteries, monitoring locomotor activity, grip strength or clinical signs can provide important additional information to histopathological evaluation.

O-09* ラットにおける非遺伝毒性肝発がん物質と毒性フェノタイプを予測できる遺伝子マーカーセットの探索

○神吉 将之¹⁾、魏 民²⁾、梯 アンナ²⁾、山野 莊太郎²⁾、鱈淵 英機²⁾

¹⁾アステラス製薬(株) 安全性研究所、²⁾大阪市立大学 医学研究科 都市環境病理学

【目的】我々はOpen TG-GATES (<http://toxico.nibio.go.jp>) に格納されているラット4, 8, 15, 28日間投与時の肝臓由来GeneChipデータを活用し、非遺伝毒性肝発がん物質の短期スクリーニング系構築を目的に研究を進めている。本研究ではOpen TG-GATESに格納されている化合物のうち、CPDB (The Carcinogenic Potency Database) で報告されている非遺伝毒性肝発がん陽性化合物と肝発がん陰性化合物について、肝発がん陽性化合物の毒性フェノタイプを分類でき、肝発がん陽性と陰性を区別し得る遺伝子マーカーセットを探索した。

【方法・結果】遺伝子マーカーセットの抽出では、細胞障害性タイプとして肝細胞壊死を惹起するチオアセトアミド、メタピリレン、酵素誘導タイプとしてヘキサクロロベンゼン、フェノバルビタール、PPAR α アゴニストタイプとしてWY-14643、クロフィブレートを用いて、CPDBで示された肝発がん用量 (TD50, mg/kg/day) 以上で発現変化を示す遺伝子セットを抽出した。その結果、各毒性フェノタイプごとに肝発がん用量以上で発現変化を示す遺伝子セットが抽出された。次にこの遺伝子セットを用いて、他の非遺伝毒性肝発がん陽性化合物 (6化合物) と陰性化合物 (21化合物) を加え主成分解析を行った。その結果、肝発がん陽性化合物を細胞障害性タイプ、酵素誘導タイプ、PPAR α アゴニストタイプの何れかに分類でき、かつ、28日間投与時ではCPDBで示された肝発がん用量を指標にした際、感度約70%、特異度約96%で肝発がん陽性と陰性を区別する事ができた。

【結論】本研究によって抽出された遺伝子マーカーセットにより、1か月間までの反復投与で調査化合物の毒性フェノタイプと非遺伝毒性肝発がんを予測できる可能性が示唆され、非遺伝毒性肝発がん物質の短期スクリーニング系の一つとして活用できる事が期待される。

O-10* gpt deltaラットを用いた2-AAFの肝発がん性および変異原性の包括的評価モデルの検討

○奥村 真衣、魏 民、山野 莊太郎、藤岡 正喜、多胡 善幸、北野 光昭、鱈淵 英機

大阪市立大学大学院 医学研究科 都市環境病理学

【目的】化学物質の安全性を評価するためには、発がん性と変異原性の評価は必要不可欠である。しかし、現行の発がん性試験法と変異原性試験法にはそれぞれ問題点が存在している。本研究では、化学物質の遺伝毒性と発がん性を短期間で包括的に検出可能な新しい中期肝発がんリスク評価法の開発を目的とし、既知遺伝毒性肝発がん物質である2-acetylaminofluorene (2-AAF) を用いて、*in vivo*変異原性の検索が可能なgpt delta F344ラットを用いた中期肝発がん性試験法の発がん性および変異原性の包括的評価モデルの有用性について検討を行った。

【方法】6週齢の雄性gpt delta F344ラット30匹をGroup1, 2, 5, 6の4群に分け、Group1, 2は実験開始時にdiethylnitrosamine (DEN) を腹腔内投与し、2週目よりGroup2は50ppm 2-AAFを混餌投与した。3週目に両群ともに2/3部分肝切除を行い、第8週まで飼育を行い、剖検を行った。Group5は実験開始から第8週まで基礎飼料を与え、Group6は2週目から50ppm 2-AAFを混餌投与した。6週齢の雄性F344ラット24匹をGroup3, 4の2群に分け、実験開始時にDENを腹腔内投与し、Group4は2週目より50ppm 2-AAFを混餌投与した。3週目に2/3部分肝切除を両群ともにを行い、第8週まで飼育し、剖検を行った。

【結果】肝臓の前がん病変マーカーであるGST-P陽性細胞巣の数および面積が、対照群と比較して、2-AAF投与群において、F344ラット、gpt delta F344ラット共に有意な増加がみられた。また、F344ラットとgpt delta F344ラット間でGST-P陽性細胞巣の数および面積に有意な差は認められず、系統差はみられなかった。In vivo変異原性を評価するgpt assayおよびSpi assayでは、対照群と比較して、2-AAF投与群で有意に変異体頻度が上昇した。以上の結果より、本モデルにおいても2-AAFが肝臓に対してプロモーション作用を有することが確認され、本モデルが発がん性・変異原性の評価に有用であることが示された。

O-11* gpt deltaラットを用いた短期発がん物質検出モデルの開発

○松下 幸平¹⁾、石井 雄二¹⁾、高須 伸二¹⁾、黒田 顕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

化学物質の発がん性評価は、げっ歯類による長期発がん性試験により行われているが、多大な動物数・コスト・時間が必要とされ、また、その結果をヒトに外挿するためにはmode of actionを解析する必要がある。そこで今回、*gpt delta*ラットを用いた*in vivo*変異原性とglutathione S-transferase placental form (GST-P) 定量的解析による短期発がん評価系開発の可能性について検討した。6週齢雄性*gpt delta*ラットに被験物質を4週間投与した後、組織採材を目的とした部分肝切除 (PH) を施し、切除肝においてイニシエーション活性の指標として*gpt assay*を実施する。PHの18時間後にイニシエーション処置としてdiethylnitrosamine (DEN) を10 mg/kg単回腹腔内投与し、被験物質投与をさらに6週間継続した後、GST-P定量的解析を行い、プロモーション活性の指標とする試験系を構築した。化学物質は遺伝毒性肝発がん物質として2-acetylaminofluorene (2-AAF)、2-amino-3-methylimidazo [4,5-f] quinolone (IQ)、safrole (SF)、非遺伝毒性肝発がん物質としてpiperonyl butoxide (PBO)、phenytoin (PHE)、非発がん物質としてacetaminophen (APAP)、遺伝毒性は報告されているものの肝臓には発がん性が認められないaristolochic acid (AA)を用いた。2-AAF、IQ、SF、AA群において*gpt* 遺伝子突然変異頻度が有意に上昇し、スペクトラム解析では2-AAF、IQ群において主にGC:TA transversion 変異頻度、AA群ではAT:TA transversion 変異頻度の上昇が認められ、これらは過去の報告と一致していた。GST-P陽性細胞の数・面積ともに従来の肝中期発がん性試験の結果と一致して2-AAF、IQ、SF、PBO、PHE群では有意な増加を示し、APAP群では有意な減少を示した。以上の結果より、*gpt delta*ラットに部分肝切除を施し、*gpt assay*とGST-P解析を組み合わせた短期発がん評価系開発の可能性が示された。今後は、被験物質とDENの相互作用を回避する投与時期の検討などを進め、短期発がん検出モデルの樹立を目指す予定である。

O-12* 6-propyl-2-thiouracil (PTU) のラット発達期暴露による甲状腺機能低下を介したニューロン・グリア発達障害に関連する遺伝子発現プロファイルの異なる脳部位での同定

○白木 彩子^{1,2)}、赤根 弘敏¹⁾、齋藤 文代³⁾、赤堀 有美³⁾、今田中 伸哉³⁾、板橋 恵^{1,2)}、王 リュン¹⁾、大石 巧¹⁾、鈴木 和彦⁴⁾、三森 国敏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 毒性

【目的】ラットの発達期甲状腺機能低下により海馬歯状回のニューロン新生傷害や帯状束のグリア分化異常が生じることは知られているが、それらの傷害性に関連した遺伝子発現の網羅的解析はなされていない。そこで本研究では、発達期甲状腺機能低下モデルを利用し、海馬歯状回、脳梁、帯状回、小脳における、ニューロン・グリア発達障害に関連する発現変動遺伝子プロファイルの同定を目的として以下の実験を行った。

【方法】SDラットに妊娠6日から出産後21日までPTUを0、1、3、10 ppmの濃度で飲水投与し、仔動物を生後21日及び77日目に屠殺した。生後21日の仔動物の脳材料について、マイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析結果を基に、gene ontology termによるクラスター解析を行った。

【結果】海馬、脳梁、帯状回、小脳の全部位において、ニューロンの新生・分化・機能に関与する遺伝子群に変動が認められた。また、脳梁及び帯状回において、グリアの発生・分化に関与する遺伝子群の発現低下が認められた。特徴的な遺伝子として、各部位に共通して*Ephb1*、*Ephb2*、*Grin2a*、*Gria3*の発現低下、*Efnb3*、*Reln*、*Sdc2*の発現増加が認められたほか、脳梁及び帯状回で*Mbp*、*Plp1*、*Hdac11*の発現低下、*Vim*、*Gfap*の発現増加が認められた。これらの変動は、real-time RT-PCRによっても確認された。また、免疫組織化学的検索により、脳梁において、vimentin及びGFAP陽性細胞の増加が認められた。

【考察】ephrin-Ephシグナリングは、ニューロンの移動・増殖、グルタミン作動性シナプスの可塑性に関与しているほか、Reelin及びSyndecan 2との相互作用も報告されていることから、これまでに我々が検出している永続的なニューロン新生傷害を反映する、新たな指標となり得る可能性が示唆された。また、成熟後もグリア新生の場となる脳梁において、グリア新生傷害を反映するプロファイルが得られ、傷害性に特異的なバイオマーカーの探索の可能性が示された。

O-13* Dextran sulfate sodium (DSS) 誘発性大腸炎の粘膜修復過程における腸管上皮幹細胞の役割

○村井 厚子¹⁾、平田 暁大²⁾、高松 学³⁾、久野 壽也³⁾、柳井 徳磨¹⁾、原 明³⁾

¹⁾岐阜大学 大学院連合獣医学研究科 獣医病理、²⁾岐阜大学 生命科学総合研究支援センター 動物実験、

³⁾岐阜大学 大学院医学研究科 腫瘍病理

【目的】大腸粘膜の陰窩は異なる数種類の分化細胞から構成され、陰窩底部にはこれら全ての細胞の元となる腸管上皮幹細胞が存在する。近年、Lgr5などの腸管上皮幹細胞のマーカーが見出され、その研究が急速に進んでいるが、粘膜修復過程における腸管上皮幹細胞の動態および役割については明らかにされていない。そこで今回、DSS誘発性大腸炎の粘膜修復過程に、Lgr5陽性腸管上皮幹細胞がどのように関与しているかを検討した。

【材料および方法】C57BL/6JマウスおよびLgr5発現細胞をGFPで標識可能なLgr5-GFPノックインマウス (*Lgr5-EGFP-IRE5-creERT2*)を用いた。5週齢のマウスに、2%DSSを5から7日間飲水投与し、その後3日から21日後に解剖し、大腸を組織学的および免疫組織学的に検索した。

【結果】DSS投与後に大腸上皮細胞の変性および脱落が認められ、粘膜固有層にマクロファージ、好中球等の浸潤が認められた。大腸陰窩が完全に脱落した部位では、その表層が1層の上皮細胞で覆われ、この部位に隣接して陰窩が多数分岐する像が観察された。免疫組織学的に、分岐により生じた陰窩において多数のKi67陽性細胞が認められ、さらに、Lgr5-GFPノックインマウスの解析により、分岐した陰窩の先端にGFP陽性を示すLgr5発現細胞が存在することが明らかとなった。また、陰窩脱落部の表層を覆う上皮細胞層から底部に向かって陰窩が再生する像が観察され、その再生陰窩の下部ではKi67陽性細胞が認められた。

【考察】今回の結果から、DSS処置による大腸上皮細胞脱落後の陰窩の再構築には、(1)陰窩欠損部に隣接した部位で起こる陰窩の分岐、(2)欠損部を覆う上皮層からの陰窩の再生が寄与していることが示唆された。さらに、この陰窩の再生にはLgr5陽性腸管上皮幹細胞が関与していることが明らかとなった。現在、*Lgr5-EGFP-IRE5-creERT2*マウスと*Rosa26-lacZ*レポーターマウスとの交配により得られたF1個体を用いてLineage tracing法を実施し、Lgr5発現細胞が実際に再生陰窩の細胞供給源として機能しているか検討中である。

O-14* マウス肺扁平上皮癌モデルにおける気管支肺胞幹細胞のcancer initiating cellとしての可能性

○山野 荘太郎、魏 民、藤岡 正喜、梯 アンナ、岡部 恭子、武下 正憲、鱈淵 英機

大阪市立大学大学院 医学研究科 都市環境病理学

【背景及び目的】近年、肺末梢部では組織幹細胞として、気管支肺胞幹細胞 (BASC) の存在が証明され、K-ras G12Dマウスを用いた研究より、肺腺癌におけるcancer-initiating cell (CIC)として注目されている。今回の実験では、肺扁平上皮癌の発がん過程早期におけるBASCの関与について検討した。

【方法】雌性A/Jマウス6週齢を用い、肺扁平上皮癌誘発物質であるN-nitroso-tris-chloroethylurea (NTCU)、対照群には溶媒であるアセトンを実験開始後4週まで投与した。その後4週間の休薬を行い、全匹剖検を行い、各種解析に興じた。

【結果】扁平上皮系マーカーについて検討した結果、NTCU投与群でのみp63陽性細胞を認めた。そこで、BASCにおけるp63の陽性率を検討した結果、NTCU投与群でのみ、11%の頻度で認めた。またKi-67陽性BASCも、NTCU投与群でのみ約5%に認めたことから、扁平上皮分化能と細胞増殖能を有したBASCの存在が明らかとなった。セルソーターにて、BASCの分取を行った後、既知幹細胞マーカーのmRNA発現解析を行った結果、対照群のBASC分画に対し、NTCU投与群の同分画で、CD133, CD44, c-kit, c-myc及びklf4の発現上昇を認めた。マイクロアレイの解析結果よりERK/p38/MAPK経路、PI3K/Akt経路及びTGFbeta経路が活性化されていることが考えられた。発がん関連因子の探索のため、プロテオーム解析を行った結果、NTCU投与群のBASC分画でREV1蛋白が同定され、NTCU処置群のBASC及び癌部で発現上昇していることが明らかとなった。

【結論】NTCU誘発肺扁平上皮癌モデルにおいて、発がん過程早期で認められた増生BASCの中に、肺扁平上皮癌のオリジンとなり得るCICが存在する可能性が示唆された。

O-15 眼刺激性評価のための牛角膜を用いた混濁度および透過性試験法(BCOP法) —病理組織学的検査を中心に—

○古川 正敏¹⁾、六川 潤美¹⁾、榊原 隆史¹⁾、伊藤 浩太¹⁾、藤平 司郎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】化学物質の安全性評価のために実施されている安全性試験の一つにウサギを用いた眼刺激性試験(Draize法)があるが、動物愛護の観点から様々な代替法が検討されてきた。そのうちの一つである「牛摘出角膜を用いた眼刺激性試験代替法(BCOP法)」が、2009年にOECDの化学物質に関する試験法ガイドライン(TG 437)に、眼腐食性および強度刺激性を評価する試験法として採択された。本法は海外では受託試験として確立されているが、国内ではこれまで実施されていなかった。そこで我々は受託試験として国内で初めて立上げ検討すると共に、病理組織学的検査のデータ集積も進めてきたので報告する。

【方法】食用牛の眼球より摘出した角膜を専用のホルダーに装着し、培地を満たして加温および平衡化した。被験物質暴露後に、オパシトメーター(BASF)により角膜の混濁度を測定し、フルオレセインナトリウム溶液の角膜透過率を分光光度計により測定した。また、混濁度および透過率より、*in vitro*刺激性スコア(IVIS)を算出し、化学物質の腐食性または刺激性の強さを判定した。次いで全ての角膜を10%中性緩衝ホルマリン液で24時間以上固定し、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た。組織検査では角膜上皮、角膜実質、角膜内皮のそれぞれにみられた所見について1+から4+の4段階評価を行った。

【結果および考察】これまでOECD TG 437推奨物質及び既に*in vivo*の試験により眼刺激性が明らかになっている複数の物質について検査し、算出された*in vitro*刺激性スコア(IVIS)は、公表されている*in vitro*成績とも一致度は高く、眼腐食性・強度刺激性の検出精度が高いことが確認された。また、組織検査では、空胞化、核変化、細胞消失など種々の変化を捉えることができたので、新規化合物の眼刺激性の検出精度は高まることが期待される。

O-16* ミニブタの萎縮した精細管の比率及びライディッヒ細胞の面積率

○伊藤 格、鈴木 信介、松下 久美、吉島 賢一、小池 恒雄、矢吹 慎也、今井 順、木村 均

(株)日本バイオリサーチセンター

【目的】ミニブタは、解剖、生理的所見がヒトとの間に多くの類似点があり、ミニブタの成熟体重がヒトに近く、体重当たりの各臓器の重量比もヒトのそれにきわめて近い。これらの特徴から、近年、医薬品あるいは医療機器開発における非臨床試験にミニブタの利用が増加している。そして、各施設から病理組織学的検査を含めた背景データが報告されてきた。それらの背景データにおいて、精巣の精細管萎縮やライディッヒ細胞(間細胞)の過形成が報告されていた。我々もこれまでの病理組織学的検査において、対照群でも精細管萎縮を経験してきた。また、ミニブタの精巣は、他の実験動物と比較してライディッヒ細胞が目立つ組織学的特徴を有していた。そこで、ミニブタの精巣の組織学的特徴を明らかにするため、対照群の精巣について、萎縮した精細管の比率及びライディッヒ細胞の面積率を計測した。

【方法】我々の施設で実施した試験の対照群の精巣を用いて計測した。動物は7ヵ月及び15ヵ月齢のGöttingen系ミニブタ(供給源:エレガード社、輸入代理店:オリエンタル酵母工業株式会社)、8ヵ月齢のNIBS系ミニブタ(供給源:日生研株式会社)であった。精巣はプアン液に一晩固定後、90%エタノールに再固定した。横断面を切り出し、パラフィン包埋後、HE染色組織標本を作製し、精細管に占める萎縮した精細管の比率ならびに精巣横断面の面積に対するライディッヒ細胞の面積率を計測した。

【結果及びまとめ】今回計測した対照群の精巣においても、萎縮した精細管が認められ、その比率には個体差があった。また、横断面の面積に対するライディッヒ細胞の面積率は、他の実験動物と比較して明らかに高値であった。ミニブタを用いた非臨床試験において精巣毒性を評価する際には、萎縮した精細管の比率及びライディッヒ細胞の面積率の生理的範囲を把握しておく必要がある。したがって、その背景データを集積することは有益である。本学会では、現在実施中の試験のデータを加えて報告する。

O-17* NOD/Shi-scid, IL-2R γ nullマウスを用いたヒト甲状腺移植モデルの有用性

○藤井 悦子¹⁾、Chen Yu Jau^{2,3)}、加藤 淳彦¹⁾、渡邊 剛¹⁾、加藤 千恵¹⁾、三好 昌夫¹⁾、林 修次¹⁾、
松原 亨^{1,2,3)}、大西 保行⁴⁾、鈴木 雅実¹⁾

¹⁾中外製薬(株)、²⁾ファーマロジカルズ・リサーチ、³⁾中外ファーマボディ・リサーチ、

⁴⁾(公財)実験動物中央研究所

【目的】 甲状腺の研究は放射線暴露や内分泌攪乱物質の人体への影響という観点から近年注目されており、ヒトへの外挿性の高いモデルが求められている。そこで、長期間観察のために継代が必要なscidマウスのヒト甲状腺移植モデル改善を目的としてヒト組織の宿主として優れており、実験動物の系統として安定しているNOD/Shi-scid, IL-2R γ ^{null}マウス(NOGマウス)におけるヒト甲状腺組織の長期維持モデルの作出を試みた。

【対象および方法】 治療目的で外科的に摘出された9症例のヒト腺腫様甲状腺腫組織を各症例1ないし2匹のNOGマウスに皮下移植した。5-6週ごとに44週まで3-4匹の組織を採取し、病理組織学的評価を行った。

【結果】 ヒト甲状腺組織移植NOGマウスでは11/13匹で生着がみられ、77週までコロイドを入れた甲状腺濾胞の形態が保持された。移植前組織を観察したところ、退行性病変が少なくより完全性が高い場合に生着があることが明らかとなった。さらに、生着した組織でのみヒト特異的vimentin陽性の血管内皮細胞が観察された。生着した組織では機能タンパクであるThyroglobulin (IHC、ISH) とTPO (IHC) の発現が77週まで認められた。

【結論】 以上のことから、NOGマウスへのヒト甲状腺移植により長期間形態および機能が保持されるモデルの作出が可能であることが示された。

ポスター要旨

P-01~P-91

P-01 ラットにおける2-エトキシ-2-メチルプロパンの肝臓発腫瘍性機序の解明

○梯 アンナ¹⁾、萩原 昭裕²⁾、今井 則夫²⁾、魏 眠¹⁾、長野 嘉介³⁾、福島 昭治⁴⁾、鱈淵 英機¹⁾

¹⁾大阪市立大学 大学院医学研究科 都市環境病理学、²⁾DIMS医科学研究所、

³⁾長野毒性病理学コンサルティング、⁴⁾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

【緒言】本研究では、ラットにおける2-エトキシ-2-メチルプロパン (ethyltertiary-butyl ether、ETBE) の肝臓発腫瘍性機序 (MOA) の解明を目指した。

【方法】6週齢F344雄性ラット80匹を用いて実験開始時より0, 300mg/kg/day ETBE 及び2000mg/kg/day ETBE (それぞれi.g.) または 500ppm phenobarbital(PB) を投与し、1と2週間後で経時的にETBEとPB投与の肝臓を病理学的、透過型電子顕微鏡 (TEM) 的、生化学的ならびに分子生物学的に検索した。

【結果】2000mg/kg/day ETBE及びPB投与の1週目及び2週目に、肝臓においてミクロゾーム分画のOH^oが、P450 total content及び核の8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) 形成レベルの上昇と細胞質におけるCYP2B1/2、CYP3A1/2及びCYP2C6 mRNAと蛋白質の蓄積をともないながら、有意に上昇した。CYP2E1及びCYP1A1の誘導が2000mg/kg/day ETBE投与群のみにみられた。300mg/kg/day ETBE 投与群では有意な酸化ストレスの誘導が認められなかった。高用量ETBE及びPB投与2週間後では8-OHdG形成レベル及びアポトーシス指数の顕著な上昇が認められた。8-OHdGの修復酵素である8-oxoguanine glycosylase 1の発現減少に応じて、8-OHdGレベルの上昇が誘導された。TEM解析結果により、高用量ETBE投与2週間後では肝細胞においてペルオキシソームの増殖がみられた。プロテオーム及びTEM解析の結果により、ラットの肝臓において、2000mg/kg/day ETBE高用量投与群で認められた蛋白質の過剰発現は主にCAR、PXR (PB投与群でより高度) 及びPPARs (PB投与群では認めず) 核内レセプターの活性化により誘導されていた。

【総括】ラットにおけるETBEの発腫瘍性機序はPBのMOAと同様であるのみならず、PPARsの活性化が関与していると考えられた。酸化ストレスの誘導はCAR、PXRやPPARsの活性化によって引き起こされ、ラットにおけるETBEの発腫瘍性はヒトに外挿できないと結論される。

P-02 チオアセトアミド(TAA)誘発ラット肝硬変におけるGST-P陽性と陰性病変における異なるマクロファージの出現

○Kavindra Wijesundera、井澤 武史、市川 智彩、Anusha Tennakoon、村上 宙、

Hossain MD. Golbar、桑村 充、山手 丈至

大阪府大 獣医病理

After acute hepatocyte injury, a variety of macrophage populations appear; the macrophages may have functions to stimulate injury or to repair lesions, indicating their importance. However, macrophage properties have not yet been decided in progressive hepatic lesions such as cirrhosis. The relationship between macrophages and GST-P-positive/negative hepatic lesions was investigated in developing cirrhosis induced by TAA (100 mg/kg BW, twice a week for 32 weeks). Pseudolobules (PLs) separated by collagen bridges consisting of α -SMA-positive myofibroblasts were completely formed at week 15, and thereafter the myofibroblasts gradually decreased. In contrast to controls, mRNA expressions of MCP-1 and TGF- β 1 were consistently increased. GST-P-positive foci began to be seen at week 10; at week 25, GST-P-positive and negative PLs were clearly distinguished. BrdU-positive proliferating cells were less in GST-P-positive than-negative PLs. The numbers of macrophages reacting to CD68, CD204, Gal-3, Iba1 and MHC class II gradually increased with the maximum at weeks 15; CD163+ macrophages showed a consistent increase. Interestingly, the numbers of CD68+, CD163+, CD204+, Gal-3+ and Iba1+ macrophages were more increased in GST-P-positive PLs, whereas MHC class II+ macrophage number was more predominant in GST-P-negative PLs. It was found that TAA-induced cirrhosis at advanced stages consisted of GST-P-positive/negative PLs, and there were differences in macrophage populations between these PLs.

P-03* α -naphthylisothiocyanate (ANIT)により誘発したラットの急性と慢性胆管病変におけるマクロファージと筋線維芽細胞の特性比較

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

Macrophages play important roles in development of hepatic lesions by hepatotoxicants. To compare macrophage properties, cholangiocyte injury was induced in F344 rats by single (acute) or repeated (chronic) injections of ANIT. In acute study, biliary lesions (consisting of cholangiocyte necrosis/regeneration, cell reaction and slight fibrosis) were greatest on day 2-3 of injection, which recovered by day 12. In chronic study, by contrast, biliary lesions gradually progressed until week 19 with advancing fibrosis. In both studies, MHC class II (OX6; reflecting antigen presentation) expressing macrophages consistently increased almost throughout the experiment period, followed by increment of CD68 (ED1; reflecting phagocytosis)- and CD204 (SRA-E5; reflecting lipid metabolism)-positive macrophages. The MHC II+ macrophages were seen exclusively in the affected Glisson's sheath and CD204+ macrophages along the sinusoids in the vicinity of the Glisson's sheath. Interestingly, CD68+ macrophages were distributed in the Glisson's sheath as well as in the vicinity. Appearance of macrophages reacting to CD163 (ED2; reflecting proinflammatory cytokine production) was transient (mid stage) in acute study and delayed (late stage) in chronic study. Vimentin expressed in myofibroblasts at early stages in acute and consistently in chronic study. Although α -smooth muscle actin (α -SMA) expressed at late stages in both studies, desmin expressing cells were fewer in chronic study. Taken together, MHC class II+ macrophages seem to have central roles in induction of myofibroblasts in biliary fibrosis.

P-04 *gpt delta*マウスを用いた臭素酸カリウムの*in vivo*変異原性の検索とニトリロ三酢酸併用投与の影響

○石井 雄二¹⁾、木島 綾希¹⁾、高須 伸二¹⁾、松下 幸平¹⁾、黒田 顕¹⁾、児玉 幸夫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 毒性部

【目的】臭素酸カリウム (KBrO₃) は、酸化的DNA損傷を介した遺伝子突然変異を経てラットに腎臓がんを引き起こすと考えられている。一方、マウスでは酸化的DNA損傷は生じるものの、腎臓がん性は認められない。本研究では、酸化的DNA損傷の発がん過程への関与の詳細を明らかにすることを目的として、*gpt delta*マウスにKBrO₃を投与して、腎臓におけるレポーター遺伝子の変異頻度を検索した。また、腎臓がんプロモーターであるニトリロ三酢酸 (NTA) 併用投与による修飾効果を検討した。

【方法】6週齢の雌性B6C3F₁ *gpt delta*マウス20匹を各群5匹に配し、0.15% KBrO₃と1.5% NTAの併用投与群、それぞれの単独投与群ならびに対照群を設定した。KBrO₃は飲水に、NTAは粉末飼料に混じて13週間投与した。腎臓の病理組織学的検索、DNA中の*gpt*及びSpi⁻遺伝子変異体頻度 (MF) の検索ならびに酸化的DNA損傷の指標である8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) の測定を行った。

【結果】KBrO₃単独投与群では、腎臓の8-OHdGレベルは対照群に比して有意に上昇した。*in vivo*変異原性の検索では、対照群に比べ*gpt*及びSpi⁻ MFの有意な上昇が認められた。スペクトラム解析の結果、*gpt*変異体では一塩基欠失の頻度が有意に増加し、Spi⁻変異体では二塩基以上の欠失と一塩基欠失によるフレームシフト変異の頻度が増加した。一方、NTA併用投与群では、いずれの検索項目においてもKBrO₃単独投与群との間に有意な差は認められなかった。

【考察】KBrO₃はマウス腎臓において8-OHdGレベルの上昇と欠失変異を特徴とした突然変異を誘発した。8-OHdGはその修復過程で欠失変異を引き起こすことが知られており、KBrO₃は非発がん標的臓器のマウス腎臓においても酸化的ストレスを介した変異原性を有することが示された。一方、NTA併用投与の*in vivo*変異原性に対する影響は認められなかったことから、細胞増殖の亢進はKBrO₃の遺伝子障害性に影響を与えないことが明らかとなった。

P-05 合成抗菌剤ニトロフランの化学構造に依存した*in vivo*変異原性

○木島 綾希、石井 雄二、高須 伸二、松下 幸平、黒田 顕、小川 久美子、梅村 隆志
国立医薬品食品研究所 病理部

【目的】ニトロフランを基本骨格とする合成抗菌剤ニトロフラン類の内、発がん性が報告され、食品中への残留が危惧されるものは国内での使用が禁止されている。しかし、その発がん機序の詳細は不明であり、側鎖のヒドラジド誘導体が異なる新規合成薬の開発が現在も活発に行われている。そこで今回、ニトロフラン類の化学構造依存的な発がん機序の解明を目的に、雄ラット腎臓に発がん性の報告があるnitrofurantoin (NFT) とその代謝物の*in vivo*変異原性を検討した。

【方法】雄のF344系 *gpt delta* ラットに発がん用量のNFTならびにニトロフラン骨格を有する5-nitro-2-furaldehyde (NFA) およびヒドラジド誘導体である1-aminohydantoin (AHD) のそれぞれをNFT投与量と同モルを基準とした用量試験から得られた最大耐量で4および13週間強制経口投与した。また、雌のF344系 *gpt delta* ラットにNFTを同様に13週間投与した。投与後の腎臓について、*gpt* アッセイ、DNA中の8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) の定量解析 α_{2u} -globulin蛋白の検出ならびに同免疫染色を含む病理組織学的検索を行った。

【結果および考察】雄のNFT群で *gpt mutant frequency* (MF) の増加が4週目より認められ、13週目で有意な増加となった。*gpt* 変異体スペクトラム解析ではGC-TA transversion 変異頻度が有意に増加した。また、NFA群でも13週目に *gpt* MFが有意に増加した。8-OHdGレベルは、NFT群で4週より有意に増加し、13週では対照群より3倍以上の高値となった。また、NFT投与群で近位尿細管細胞質内に硝子滴の増加が観察され、 α_{2u} -globulin免疫染色陽性を示した。また、ウェスタンブロッティング解析の結果、 α_{2u} -globulin蛋白量の増加が確認された。以上より、NFTの腎発がん機序には酸化DNA損傷による遺伝毒性メカニズムの関与の可能性が示さ、NFTの変異原性には代謝物NFAが関与していることが強く示唆された。NFT発がん機序への α_{2u} -globulinの影響については、解析中の雌の結果を待って考察する。

P-06 * Renin阻害によるOsborne-Mendelラットの腎糸球体足細胞障害抑制効果に関する研究

○坂下 悠¹⁾、安野 恭平¹⁾、荒木 さおり¹⁾、馬場 智成¹⁾、小林 亮介¹⁾、上家 潤一²⁾、代田 欣二^{1,2)}
¹⁾麻布大学 生物科学総合研究所、²⁾麻布大学 獣医学部 病理学研究室

【背景】若齢より高血圧とタンパク尿を伴う腎障害を呈するOsborne-Mendel (OM) ラットの病理発生には糸球体足細胞の障害が重要であり、我々はOMラットの足細胞障害におけるレニン・アンジオテンシン系 (RAS) の関与の重要性を示した。RAS分子の1つである (pro)reninはprorenin受容体 (PRR) を介してRAS亢進を誘導するだけでなく、アンジオテンシンII (AII) 非依存性に独自の細胞内伝達系を活性化させることが知られ、RAS亢進はPRRを介して細胞に様々な影響を与える可能性がある。このことから本実験ではOMラットの足細胞障害における (pro)reninの役割を検索した。

【方法】オスのOMラットに3週齢から直接的レニン阻害薬 (DRI) (aliskiren, 30mg/kg/day) を経口投与し、対照群には水道水を経口投与した。両群ともに13, 20週齢で解剖し、糸球体障害抑制効果を観察した。各項目において、糸球体傷害抑制効果が得られているアンジオテンシン変換酵素阻害薬 (ACEi) (lisinopril, 5mg/kg/day)、AII受容体阻害薬 (ARB) (losartan, 27mg/kg/day) 投与群の結果と比較した。

【結果】DRI群では収縮期血圧の低下、尿中タンパクの減少が認められ、糸球体硬化が有意に抑制された。対照群でみられる足細胞傷害マーカー desminの発現及びnephrinの発現低下は、DRI群の13週齢で抑制された。電顕観察では対照群に足突起の癒合、扁平化がみられ、DRI群では一部の足突起に扁平化が認められた。以上のDRI群の結果は対照群と比べ有意差は認められたが、ACEi, ARB群における抑制効果と比べるとその程度は低かった。

【考察】足細胞にはAII 1型受容体 (AT1R) とPRR両方の発現が認められており、また足細胞自体がAIIを分泌することが報告されている。DRI群では対照群でみられた足細胞障害は抑制されたが、ACEi, ARB群と比較するとその抑制効果は低かったことから、OMラットの足細胞障害には (pro)reninのPRR結合によるAII非依存性細胞内伝達活性の関与は低く、局所RASの活性化、特にAIIが重要であることが示唆された。

P-07* Puromycin aminonucleosido腎症ラットにおけるWT1陰性足細胞の評価○菅原 豪¹⁾、若林 伸²⁾、檜村 茜²⁾、上家 潤^{1,2)}、代田 欣二^{1,2)}¹⁾麻布大学 生物科学総合研究所、²⁾麻布大学 獣医学部 病理学研究室

【背景】 WT1は成熟した足細胞に発現する核内蛋白質である。足細胞障害時にWT1の発現低下および消失が報告されているが、病態におけるWT1陰性細胞の意義は明らかではない。本研究では足細胞障害モデルにおけるWT1陰性足細胞の存在を明らかにし、同細胞におけるnephrynの発現を評価し、その意義を考察した。

【方法】 11週齢雄のF344 ラットにPuromycin aminonucleosido (PAN) 8mg/100gを静脈内投与し、0、10日目に尿中蛋白量を測定、腎臓を採材した。単離した糸球体を用いWT1の蛍光抗体法を行い、共焦点レーザー顕微鏡 (CLSM) で糸球体の連続断層像を得て画像を立体構築し、糸球体当たりのWT1陽性細胞数を測定した。また腎皮質のエポソ樹脂ブロックより1~2μmの連続切片を作成し、トルイジンブルー染色標本にて糸球体の連続画像を立体構築し、形態学的に足細胞数を測定した。また凍結切片でWT1/nephryn二重蛍光免疫染色、パラフィン切片でWT1の酵素抗体免疫染色を行った。

【結果】 PAN投与後10日目で蛋白尿がみられた。CLSM下でのWT1陽性細胞数は0日目 (95.8±17.6 cell/glomerulus) と比較し10日目 (52.4±23.7 cell/glomerulus) で有意に減少していた。一方、連続切片を用いた方法では10日目に係蹄壁外側に確認される足細胞の減少は認められなかった。二重蛍光免疫染色では10日目にWT1陰性/nephryn陰性の領域がみられ、酵素抗体法ではWT1陽性とWT1陰性の足細胞が確認された。

【考察】 免疫染色の結果および、WT1陽性細胞数と連続切片による形態学的な足細胞数の差から、PAN腎症10日目において足細胞の減少はないものの、WT1陰性足細胞が増加することが示された。また、WT1陰性細胞ではnephryn発現が低下しており、蛋白尿発現への関与が示唆された。

P-08 NADPH oxidase阻害剤apocyninによるラット前立腺発癌抑制効果○鈴木 周五^{1,2)}、佐藤 慎哉¹⁾、龍 訥¹⁾、Punfa Wanisa¹⁾、白井 智之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

【目的】 活性酸素は前立腺癌の増殖や進展に関与する報告があり、活性酸素の産生抑制は発癌抑制にも繋がると思われる。そこで、我々は内因性の活性酸素誘導酵素であるNADPH oxidaseに着目し、その阻害剤であるapocyninの前立腺発癌に対する抑制効果について、前立腺癌好発トランスジェニックラット (Transgenic Rat for Adenocarcinoma of Prostate, TRAP) を用い検討した。

【対象および方法】 6週齢TRAPラットにapocynin を100および500mg/Lの濃度で飲料水投与し、8週間の投与後、屠殺・剖検した。前立腺、肝臓、腎臓および精巣を採取し、病理組織学的に検討した。前立腺組織は各葉に分けて検討し、免疫組織学的解析も行った。また、屠殺時に採血を行い、血清中のテストステロンおよびエストラジオールを計測した。

【結果】 実験期間中にapocynin 500mg/L投与群において1割程度の飲水量低下を認めたが、体重および諸臓器重量に群間で差は見られなかった。血中テストステロン濃度は500mg/L投与群でわずかに有意な上昇を認めたが、エストラジオールに変化は見られなかった。前立腺腹葉における癌の発生頻度は100%で群間差を認めなかった。前立腺側葉では対照群および100mg/L投与群で9/11匹 (82%) であったのに対して、500mg/L投与群では6/11匹 (55%) と低下を観察したが、有意差は見られなかった。一方、単位面積あたりの癌病巣数は、腹葉、側葉のいずれにおいてもapocynin濃度依存性に有意に低下した。細胞増殖指標としてKi67、酸化ストレス指標として8-oxo-dGの免疫染色を、アポトーシス指標としてTUNEL染色を行ったが、いずれにおいても、apocynin濃度依存性に低下するとともに有意な減少を認めた。前立腺腹葉でタンパク発現を検討した結果、p44/42 MAPKリン酸化抑制およびcyclin D1発現低下を認めた。

【結論】 TRAPラットにおいて、apocyninによる発癌抑制が認められ、前立腺癌化学予防剤としての可能性が示された。現在、その抑制機序について詳細に検討している。

P-09* HDAC阻害剤OBP-801による前立腺癌予防作用の検討

○佐藤 慎哉、鈴木 周五、内木 綾、龍 訥、白井 智之、高橋 智

名古屋市立大学大学院 医学研究科 実験病態病理

【目的】 ヒストンアセチル化は、クロマチン構造を変換させ遺伝子の転写を制御する。Histone deacetylase (HDAC) 阻害剤は脱アセチル化酵素HDACを阻害することによりヒストンアセチル化を促進し、悪性リンパ腫を始めとするいくつかの悪性腫瘍に抗腫瘍活性を有することが報告されており、発癌予防効果も期待されている。我々はHDAC阻害剤が前立腺発癌に与える影響を、早期かつ高頻度に前立腺癌を発生するTRAPラット (Transgenic Rat for Adenocarcinoma of Prostate) を用いて検討した。

【方法】 雄6週齢TRAPラットをOBP-801高用量群、低用量群、無処置対照群の3群に分け、高用量群は2mg/kg、低用量群は0.5mg/kg週1回静脈内投与した。8週後屠殺剖検し、前立腺腹葉・側葉に生じた腫瘍性病変の病理組織学的検討を行った。

【結果】 高用量群、低用量群とも対照群と比較して有意に体重が減少した。前立腺腹葉における腺癌の発生頻度はいずれの群も100%であったのに対し、側葉では高用量群 (5/10、50%)、低用量群 (7/11、64%) と対照群 (10/11、91%) に比較して低下していたが有意差はなかった。腹葉の全ての腺房に占める癌病巣の割合は、対照群10.2±5.6%、低用量群6.7±3.9%、高用量群3.4±2.2%であり、高用量群で対照群と比較して有意に低下していた。また側葉における癌病巣の割合は、対照群4.9±5.3%、低用量群1.1±1.2%、高用量群1.1±1.7%であり、低用量群、高用量群とも対照群と比較して有意に低下していた。

【結語】 OBP-801は体重減少を惹起するものの、前立腺発癌を抑制する可能性が示唆された。現在、HDAC阻害剤によるepigeneticな影響を検討し、前立腺発癌抑制メカニズムを解析している。

P-10 中釜法PhIP投与による誘発前立腺発がんにおける去勢の修飾作用

○杉江 茂幸¹⁾、田中 卓二²⁾

¹⁾朝日大学、²⁾東海細胞研究所

前立腺癌は、近年、高齢化社会となった我が国で急速に増加を認め、国民の多くの注目を浴びる疾患となってきている。その原因は、不明の点が多く、特に、本邦の前立腺癌増加の原因は不明である。しかし、焼き肉がリスクを高めるという報告や、病理学的知見から前立腺癌の発生に前立腺炎が関与すると言う報告があり、疫学的にもこれを肯定する報告もある。PhIP誘発前立腺発がんモデルをもとに、去勢、テストステロン投与を組み合わせ、長期PhIP発がん実験を行った。方法：5週齢F344ラットを6群に分け、1-3群に5週齢に去勢し、1, 2, 4, 5群に6週齢より2週間、400 ppm PhIPを混餌投与し、4週間普通食のインターバルを置いて、2週間400 ppm PhIPを混餌投与を更に2回繰り返した。1, 4群には、PhIP最終投与終了1週間後に50 mg Testosterone propionate (TP) タブレットを皮下移植した。実験開始後73週後、実験終了、全匹犠牲死し、剖検した。結果：前立腺炎症は、Testosterone propionate (TP) 投与群に見られ、大部分、側葉に見られた。前立腺腫瘍は、顕微鏡的にPhIP+TP群、PhIP単独投与群、無処置群の腹葉のみに認め、すべて粘膜内癌 (PIN) であった。他の群には認めなかった。前立腺腫瘍は、PhIP+TP、11匹中3匹、PhIP単独投与、11匹中9匹、無処置、7匹中1匹に認められた。去勢した群には、いずれも前立腺腫瘍は、発生しなかった。去勢をしなかった群は、すべて、前立腺腫瘍の発生を認め、PhIP単独投与群で有意に高値を示した。考案：これらの結果から、去勢によって、癌の発生母地が消失した可能性が考えられる。また、TPに抑制効果が示唆された。去勢によって、幹細胞から前立腺癌になるという仮説は否定された。炎症が発生した葉とPINの発生した葉は異なったことから、炎症による腫瘍への修飾作用については、不明である。さらなる検討が必要と考える。TP投与により腫瘍発生が減少したと思われる結果が得られ、TPの一時的過剰投与ないし変動が影響を及ぼした可能性が示唆される。

P-11 PFA-AMeX法における組織形態保持と核酸品質の関係： LCM / DNA microarray analysisへの応用

○加藤 淳彦¹⁾、渡邊 剛¹⁾、Chen Yu²⁾、芦原 基起¹⁾、寺島 弘道¹⁾、水野 英明¹⁾、加藤 千恵¹⁾、三好 昌夫¹⁾、林 修次¹⁾、足立 健児¹⁾、伊藤 恒夫¹⁾、松原 亨一^{1,2)}、鈴木 雅実¹⁾

¹⁾中外製薬(株) 研究本部、²⁾PharmaLogicals Research Pte. Ltd.

【目的】 Laser-capture microdissection (LCM)とDNA microarrayを組み合わせた網羅的遺伝子解析は、核酸ソースを癌に限定するため、癌特異的な遺伝子変動を検出できる有用な手法であるが、半面、組織形態と核酸品質の保持に関するtrade-off問題の存在が指摘される。具体的に前立腺増殖性病変を例にとると、核酸品質に優れる凍結標本では、組織診断の難しい境界病変の見極めが問題となるのに対し、ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 標本では、病巣の見極めは可能であるが、核酸に劣化がみられる点があげられる。以上から抗原性と組織形態の両者を保持することで知られるPFA-AMeX法について、その遺伝子保持への影響を調べ、上記trade-off問題における本法の位置づけを検討したので報告する。

【結果および考察】 ヒト前立腺がん13症例、過形成17症例から得た組織を分割し、一方からPFA-AMeX標本を、他方からFFPE標本を作製した。この標本から疾患組織をLCMにより切り出して得たRNAに対して、beta-actin に対する3'ならびに5'末端側プライマーを用いたqRT-PCRを行い、5'末端側プライマーから得たPCR産物量と、3'ならびに5'末端側プライマーからのPCR産物量比を指標として、その品質を検討した。その結果、PFA-AMeX法が核酸品質において優れる事がわかったことから、同品質検証法の暫定基準値 (5' amplicon \geq 0.5, 3'/5' ratio \leq 20) を設定し、この範囲にあるサンプルに対して、Human X3P GeneChip® arraysを用いた解析を行った。その結果、成績の採用基準 (%Pcall \geq 30, SF \leq 1.5) を満たす確立は、FFPEで25.0%であるのに対し、PFA-AMeXでは85.7%と、極めて良好であることがわかった。

【結論】 PFA-AMeX法は、遺伝子品質と組織形態の両者をよくバランスする点で有用な方法である事が明らかとなった。

P-12 マウス大腸陰窩上皮の遺伝子損傷刺激に対する応答

○塚本 徹哉

藤田保健衛生大学 医学部 病理診断科

放射線被曝によるリスク発症に関しては、様々な疫学研究とともに、分子レベルあるいは細胞レベルでの多数の知見が報告されてきている。しかし、生体内では、どのような細胞が放射線に応答するのか、そのような細胞が時間的空間的にどのような動態を示すのかという検証はほとんどなされていない。そこで、X線照射したマウスから、大腸陰窩を腺管分離して、X線照射に対して発現量が変動するタンパクの同定を試みた。大腸分離腺管から蛋白質を抽出し、得られた可溶性蛋白質を二次元電気泳動法により分離した。蛍光色素で染色後、イメージスキャナーで得られたゲル内の全スポットを非照射群と照射群で比較した。発現量に差異のあるスポットから蛋白質成分を抽出・酵素処理後、MALDI-TOF/TOFタンデム質量分析計によって解析した。その結果、X線照射によって発現量の増加あるいは減少するタンパクが同定された。増加するものとして、ezrin, radixin, moesin family、減少するものとして、high mobility group protein box 1が得られた。タンパクレベルの大きな変動を同定できれば、遺伝子障害作用に対する早期の鋭敏な反応として検出できる可能性が考えられた。

P-13* カロリー制限食及び高脂肪食を投与したLETO及びOLETFラット肝臓及び大腸粘膜のマイクロアレイ解析

○高須 千絵、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

【目的】糖尿病及び高脂血症を有するOLETFラットはLETOラットよりアゾキシメタン誘発がん高感受性であり、発がんは20%カロリー制限 (CR) で抑制され、高脂肪食 (HFD) で促進された (昨年の本学会で報告)。その機構を解明するために、血清検査と肝臓及び大腸粘膜のcDNAマイクロアレイ解析を行った。

【結果】LETO及びOLETFラットにコントロール食、20%CR食、HFDを5週間投与し、24週齢で屠殺した (n=5)。LETOラットでは20%CR群で血糖値、血清トリグリセリド、総コレステロール、インスリン、レプチンは低下し、HFD群で増加した。OLETFラットもLETOラットと同様の傾向であった。組織学的にOLETFラットでは肝細胞の脂肪化があり、20%CRで改善、HFDで増強された。肝臓のcDNAマイクロアレイ解析では20%CRで両ラットに共通してmetallothionein 1A遺伝子の上方制御、heat shock 105kDa/110kDa protein 1 (Hsph1)及びheat shock 70kDa protein 1B (Hspa1b) 遺伝子の下方制御が見られた。大腸粘膜には両ラットで組織学的な差はなく、食餌の影響も見られなかった。大腸粘膜のcDNAマイクロアレイ解析では20%CRで両ラットに共通してHspa1b及びHsph1遺伝子の下方制御が、HFDでfatty acid binding protein 2遺伝子の上方制御が見られた。

【考察】OLETFラットの発がん感受性に高インスリン血症、高脂血症に加え、酸化ストレスが重要な役割を果たすことが示唆された。

P-14 Minマウスにおける大腸ポリープ発生に対する高脂肪食の影響

○河部 真弓¹⁾、沼野 琢旬^{1,2)}、古川 文夫¹⁾、中島 弘尚¹⁾、田村 幸太郎³⁾、大石 裕司³⁾

¹⁾(株)DIMS医科学研究所、²⁾名古屋市立大学大学院医学研究科 分子毒性学分野、³⁾アステラス製薬(株)

【目的】一般に大腸がん発生のリスク要因として高脂肪食の摂取が考えられている。APC (Adenomatous polyposis coli) マウスホモログにtruncation mutationを持つMin (Multiple intestinal neoplasia)マウスは、大腸がんポリポーシスのモデルとして知られている。今回、Minマウスを用いて小腸及び大腸ポリープの発生に対する高脂肪食の影響について検討した。

【方法】7週齢のMinマウス雌雄各群10匹に、通常食 (脂質4.3 gm%) 及び高脂肪食 (脂質34.9 gm%) を7週間あるいは11週間与え、消化管を解剖学的に精査した。消化管は10%中性緩衝ホルマリン液にて注入固定し、小腸から大腸を開いてる紙に挟み固定した。実体顕微鏡下にて小腸及び大腸に発生したポリープの数及び大きさを測定した。

【結果】一般状態、体重、摂餌量及び肉眼的病理学検査では、便の変色以外に高脂肪食による影響はみられなかった。7週後の生存例数は雌雄の通常食群の雌雄では各9例、高脂肪食群の雌雄では10及び9例であり、11週後は通常食群の雌雄では各6例、高脂肪食群の雌雄では9及び8例と高脂肪食群で生存率がやや高かった。死因は多発したポリープからの出血と考えられた。生存例でのポリープの平均発生個数は、7週後の通常食の雌雄では55.2個及び52.4個であり、高脂肪食の雌雄では50.5個及び52.0個であった。11週後の通常食の雌雄では66.8個及び51.5個であり、高脂肪食の雌雄では57.1個及び60.9個であった。いずれも通常食群と高脂肪食群の間に統計学的差異はみられなかった。また、ポリープの大きさ及び発生部位による分布差も認められなかった。

【結論】Minマウスに通常食及び高脂肪食を7週間あるいは11週間投与した結果、小腸及び大腸ポリープの発生に対して、高脂肪食の影響はみられなかった。

P-15* ***gpt delta*マウスにおける高脂肪食摂取の自然発生遺伝子突然変異に与える影響**○高須 伸二¹⁾、石井 雄二¹⁾、松下 幸平¹⁾、黒田 顕¹⁾、木島 綾希¹⁾、児玉 幸夫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 毒性部

疫学的研究より、高脂肪摂取や肥満は、肝臓、腎臓や大腸など種々の臓器において発がんリスクを上昇させることが知られている。また、高脂肪食投与により誘発した肥満動物や遺伝性肥満モデル動物などの齧歯類モデルを用いた研究から、高脂肪摂取や肥満は、発がん物質によりイニシエーション処置した肝臓や大腸の発がん性を促進することが報告されている。しかしながら、高脂肪摂取や肥満の発がん促進メカニズムの詳細は未だ不明な点が多く、特に発がん過程のイニシエーション期における役割は明らかになっていない。そこで本研究では、高脂肪食摂取およびその結果として生じる肥満状態が遺伝子突然変異に与える影響を明らかにするために、レポーター遺伝子導入動物である*gpt delta*マウスに高脂肪食を投与し、肥満と発がんの関連が示唆されている肝臓、腎臓および大腸におけるレポーター遺伝子の突然変異頻度を普通食を与えたマウスと比較した。6週齢の雌雄C57BL/6系*gpt delta*マウスに基礎食または高脂肪食を13週間または26週間、自由に摂取させた。投与終了後に肝臓、腎臓および大腸を採取し、*gpt* およびSpi assayを行った。13週間または26週間高脂肪食を投与したマウスの最終体重は、雌雄ともに基礎食を投与したマウスと比較して有意に高値を示した。レポーター遺伝子突然変異頻度解析の結果、13週間高脂肪食群の雄*gpt delta*マウスの肝臓、腎臓および大腸における*gpt*およびSpi変異頻度は、基礎食投与群と比較して有意な変化は認められなかった。以上の結果は、高脂肪食摂取および肥満は自然発生の遺伝子突然変異には影響を与えない可能性を示唆しているが、26週間の摂取では肥満の程度が進んでいることから、この時期における変異頻度解析ならびに雌のデータも加えて、高脂肪食や肥満の発がん促進効果に対する自然発生性遺伝子突然変異の関与の可能性について考察する予定である。

P-16* **胎生期Perfluorooctane sulfonate (PFOS) 暴露ラットの4-Methylnitrosamino-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) 誘発肺がんへの修飾に関する検討**○本橋 昌也¹⁾、和久井 信^{1,2,4)}、田中 勲¹⁾、白井 勝¹⁾、大山 典子³⁾、武藤 朋子³⁾、鷹橋 浩幸²⁾、羽野 寛²⁾、遠藤 仁⁴⁾¹⁾麻布大学 獣医学部 比較毒性学研究室、²⁾東京慈恵会医科大学 病理学研究室、³⁾(株)薬物安全性試験センター、⁴⁾(株)ジェイファーマ

【目的】有機フッ素化合物のperfluorooctane sulfonate (PFOS) は、フッ素系界面活性剤に属するスルホン酸タイプの活性剤である。その物性から、洗浄をはじめ乳化、分散、可溶化、湿潤など多くの有用な作用を示すことから、繊維・紙・皮革製品の撥水(防水)・撥油加工用や防汚加工用、調理器具焦付き防止コーティング剤、水性膜形成泡消火剤、鋳型離型剤、半導体コーティング剤、航空機油圧作動液などとして、家庭および産業系で幅広く用いられてきた。我々はこれまでに胎生晚期PFOS暴露がラットの肺の発達に影響を示す事を報告した。本検討では、胎生晚期PFOS暴露ラットの4-Methylnitrosamino-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) 誘発肺がんへの修飾について検討を行った。

【材料・方法】SD (slc) ラット妊娠後期にPFOS 3mg, 1mg, 0.5mg PFOS/kg/dayの連日強制経口投与を行った。その後、生後3週齢から9週齢20ppm NNK飲水投与した後、90週齢で安楽死・剖検後に肺について検討を行なった。

【結果】NNK誘発肺がん率は、対照群と比較してPFOS暴露群で高い傾向を示すも有意差は認められなかった。しかし、対照群・PFOS 0.5mg暴露群と比較してPFOS 3mg, 1mg暴露群の肺がん組織サイズは、有意に高値を示した。腫瘍の組織型には有意相関は認められなかったが、その生物学的特性について検討を加える。

【まとめ】胎生期PFOS暴露はNNK誘発肺がんを亢進させることが示唆された。

P-17* マウス肺発がん過程におけるロサルタンの修飾作用の検討

○岡部 恭子、山野 莊太郎、魏 民、藤岡 正喜、謝 曉利、串田 昌彦、鰐淵 英機
大阪市大・院・医・都市環境病理学

【目的】 アンジオテンシンII受容体拮抗薬 (ARB) は、アンジオテンシンIIタイプI受容体に拮抗することで、血圧上昇を抑制する優れた高圧薬としてよく知られている。近年の研究より、ARBは、がん予防に対する効果も有する報告がなされており、前立腺癌を始め種々のがんでその作用が注目されている。その一方で、ARBの服用によりがんの発症リスク (特に肺がん) が増加する可能性があるとして報告された。しかし、その発がん機序に関して根拠が不明であり、検証が待たれている。本研究は、マウス肺発がんモデルを用い、ARBであるロサルタンの肺発がん修飾作用の検討することを目的とした。

【方法】 雌性A/Jマウス6週齢を用いた。肺腺癌誘発群として、実験開始時に4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) を単回腹腔内投与し、実験開始1週目より200mg/kgBW/dayの用量でロサルタン、または生理食塩水を週5回20週まで胃内投与を行った。肺扁平上皮癌誘発群では、実験開始時よりN-nitroso-tris-chloroethylurea (NTCU) を週2回、2週間背部に皮下投与し、実験開始2週目より18週目まで、肺腺癌誘発群と同様に投与を行った。投与終了後、全匹剖検を行い、肺の病理組織学的解析を行なった。

【結果】 肺腺癌誘発群のロサルタン投与群における過形成、腺腫、腺癌及び全腫瘍の発生頻度は、それぞれ53,71,6及び71%であり、溶媒対照群では、50,83,17及び83%であった。肺扁平上皮癌誘発群のロサルタン投与群における扁平上皮化生、異形成及び扁平上皮癌の発生頻度は、それぞれ67,25及び8%であり、溶媒対照群では、31,31及び8%であった。

【結論】 ロサルタンはマウス肺発がん促進作用を有さないことが明らかとなった。また、過去に行われた2年間発がん性試験において、ラット及びマウス共に陰性が報告されている。以上より、少なくともげっ歯類においてロサルタンが発がん性を有する可能性は極めて低いことが示唆された。

P-18 メチルアミンの13週間吸入曝露によるラット及びマウスの鼻腔病変

○高信 健司¹⁾、妹尾 英樹¹⁾、梅田 ゆみ¹⁾、片桐 卓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

メチルアミンは医薬・農薬合成原料、塗料等に使用されており、強い刺激性を示すことから労働現場での有害性が懸念されている。今回我々は、ラット・マウスの13週間全身吸入曝露試験でみられた鼻腔病変について報告する。

【方法】 試験は6週齢のF344ラットとB6D2F1マウスの雌雄各群10匹を使用した。それぞれに0、10、20、40、80、160 ppm(v/v) の濃度で、1日6時間、週5日で13週間曝露を行った。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、ラットは4横断面、マウスは3横断面で切出し、HE染色標本作製後、病理組織学的に検索した。

【結果】 ラットでは呼吸部に扁平上皮の炎症や潰瘍が雄の80ppm以上の群と雌の160ppm群でみられた。また、呼吸上皮の炎症が雄の80ppm以上の群と雌の160ppm群に、呼吸上皮の潰瘍が雌雄の160ppm群でみられ、扁平上皮化生が雄の160ppm群に1例認められた。更に、嗅部では嗅上皮の萎縮が雄の80ppm以上の群と雌の160ppm群でみられた。マウスでは呼吸部に、呼吸上皮の炎症とエオジン好性変化が雄の20ppm以上の群と雌の10ppm以上の群でみられ、呼吸上皮の潰瘍が雄の20ppm群と80ppm以上の群及び雌の80ppm以上の群で認められた。嗅部では、嗅上皮の萎縮が雌雄の80ppm以上の群にみられ、嗅上皮の呼吸上皮化生が雄の160ppm群及び雌の80ppm以上の群に認められた。また、嗅上皮のエオジン好性変化が雌の80ppm以上の群でみられた。上記の鼻腔病変はラット・マウスとも主に鼻腔前方の呼吸部とそこに隣接した嗅部にみられた。

【まとめ】 メチルアミンは水溶性に富み、強アルカリ性を示す。水溶性刺激性の化学物質は鼻腔に沈着しやすく、沈着部位に傷害を発生させることが報告されている。以上より、今回観察された鼻腔病変は強アルカリ性や刺激性に起因した変化と考えられる。また、本試験では鼻腔への影響から、ラットでは無毒性量・濃度 (NOAEL/NOAEC) を40ppm、マウスでは最小毒性量・濃度 (LOAEL/LOAEC) を10ppmと結論する。(本試験は厚生労働省の委託により実施した)

P-19 **メチルアミンの104週吸入曝露によるラット・マウスの鼻腔病変**○妹尾 英樹¹⁾、高信 健司¹⁾、梅田 ゆみ¹⁾、片桐 卓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

メチルアミンは刺激性が強いガスで、水に非常によく溶け、その水溶液は強い塩基性を示す。今回はメチルアミンの104週間全身吸入曝露によって認められたラットとマウスの鼻腔病変について報告する。

【材料・方法】試験は、6週齢のF344ラットとB6D2F1マウス、雌雄各群50匹を使用した。被験物質の曝露は、ラットが0、5、20および80 ppm (v/v)、マウスが0、5、15および45 ppm (v/v) の濃度で、1日6時間、週5日間で、104週間の吸入曝露を行った。鼻腔を10%中性緩衝ホルマリン固定、ギ酸脱灰後に3横断面で切り出し、HE標本作製し病理組織学的に検索した。

【結果】ラット・マウスとも腫瘍の発生増加はみられなかった。ラットは、雌雄とも呼吸部に呼吸上皮の炎症と扁平上皮化生の発生増加および移行上皮過形成と潰瘍の発生が80 ppm群で認められ、20 ppm以下の群では変化を認めなかった。マウスは、雄では呼吸部の移行上皮領域に炎症と上皮過形成の増加が45 ppm群で認められ、雌では、移行上皮領域に炎症と上皮過形成の増加が15 ppm以上の群、移行上皮の扁平上皮化生が45 ppm群で認められたほか、嗅部に嗅上皮のエオジン好性変化の増加が45 ppm群で認められた。5 ppm群には変化を認めなかった。ラット・マウスともに、鼻腔病変は主として鼻腔前方の移行上皮領域の上皮に認められた。

【まとめ】メチルアミンの104週間吸入曝露により、ラット・マウスともに鼻腔の呼吸上皮の傷害性変化や炎症、移行上皮過形成が認められた。鼻腔の傷害性変化は13週間吸入曝露ですでに認められたが、曝露期間を延長することによって過形成性の変化が出現したものの腫瘍への進展はなかった。鼻腔に対する影響は、ラットとマウスを比較すると、マウスはより低い濃度までみられ、また、マウスでは雌より低い濃度まで認められた。メチルアミンの無毒性量・無毒性濃度 (NOAEL/NOAEC) は鼻腔への影響をエンドポイントとして、ラットが20 ppm、マウスが5 ppmであると結論する。(本試験は厚生労働省の委託により実施した)

P-20 **ラットにおける多層カーボンナノチューブによる中皮腫誘発性に繊維長が及ぼす影響**○坂本 義光¹⁾、小縣 昭夫¹⁾、西村 哲治²⁾、広瀬 明彦³⁾、猪又 明子¹⁾、中江 大⁴⁾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⁾帝京平成大学 薬学部、³⁾国立衛研 総合評価研、⁴⁾東京農大

【目的】我々は、多層カーボンナノチューブ (MWCNT) の陰嚢内及び腹腔内投与によりラットに中皮腫が誘発されることを報告した。MWCNTの中皮腫誘発性の有無や強度は、MWCNTの性状が重大な影響を与えるとされている。本研究は、繊維長が異なるMWCNTによるラット中皮腫誘発性を比較した。

【材料・方法】動物は、F344系雄性ラット10週齢を用いた。MWCNTは、W社製2種 (WS-CNT [長さ0.5-2 μm, 径40-70 nm, Fe含有量0.046%] 及びWL-CNT [長さ0.5-10 μm, 径85-200 nm, Fe含有量6.50%]) と、S社製2種 (V-CNT [長さ8 μm, 径150 nm, Fe含有量0.031%] 及びVX-CNT [長さ3 μm, 径10-15 nm, Fe含有量1.233%]) を2% CMCに懸濁し、1 mg/kg体重の用量で、各群15匹に1回腹腔内投与した。動物は、投与後52週間を目処に飼育し、途中死亡例・瀕死例・終了時生存例について、病理学的に検索した。

【結果・考察】WL群では26-43週に全例を、V群では29-50週で1死亡例と9瀕死例を、途中解剖し、V群ではさらに52週で4生存例を解剖した。WS及びVX群では、52週で全例が生存し、解剖した。WL群では全例で、V群では12例で、腹腔内に腫瘍結節と出血性腹水を認め、組織学的には、両群の全例に中皮腫を認めた。WS及びVX群では腹腔内に腫瘍結節や出血性腹水を認めず、組織学的にも、WS群で中皮腫の発生がなく、VX群でも1例に中皮腫を認めるにとどまった。MWCNTは、中皮腫が発生したWL群及びV群で単繊維状または繊維微小集塊状を呈して中皮下に散在し、中皮腫がほとんど発生しなかったWS群及びVX群で肉芽腫内で被包されていた。以上より、ラットにおけるMWCNTによる中皮腫誘発性には、繊維長とそれに起因する存在状態が大きく影響しているものと示唆された。

P-21 多層カーボンナノチューブ(MWCNT)の13週間吸入暴露によるラットの呼吸器毒性

○梅田 ゆみ、高信 健司、妹尾 英樹、片桐 卓、相磯 成敏、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

ストレートタイプのMWCNTは長い線維状構造を持つことから、アスベストと同様に胸膜に炎症や中皮腫を引き起こす可能性が示唆される。我々は、ラットを用いて全身曝露によるストレートタイプのMWCNTの発がん性試験を実施するために、その予備試験として13週間吸入試験を行った。その結果、ラットの呼吸器に毒性影響が認められたので報告する。

【方法】被験物質はMWNT-7(保土谷化学工業(株))、曝露にはサイクロンシーブシステムによる乾式全身吸入曝露装置を用いた。動物は8週齢のF344/DuCrIjラットを投与群3群と対照群1群の計4群の構成で、各群雌雄とも10匹、合計80匹を用いた。濃度は雌雄とも0(対照群)、0.2、1及び5mg/m³とし、1日6時間、週5日間の投与で13週間とした。全動物を剖検し、臓器重量、病理組織学的検査、気管支肺胞洗浄液(BALF)検査を行った。

【結果】チャンバー内のMWCNT濃度は、各濃度群とも設定濃度で13週間安定して制御されていた。肺重量は1及び5 mg/m³群で増加した。病理組織学的変化では、肺に肉芽腫性変化が雄の全投与群と雌の1及び5 mg/m³群でみられた。肺胞壁の限局性線維化は1及び5 mg/m³群で認められた。鼻腔では、杯細胞過形成が1及び5 mg/m³群でみられた。MWCNTは全投与群の気管支や肺胞腔内や肺胞壁に認められ、肺胞腔内のMWCNTのほとんどは肺胞マクロファージに貪食された状態で観察された。BALF検査では総蛋白、アルブミン、LDH、ALPの値が投与濃度に対応して増加し、好中球とリンパ球の増加は1及び5 mg/m³群で認められた。

【まとめ】MWCNTの13週間全身曝露により、ラットの呼吸器に投与濃度に対応したBALFの変化と病理組織学的変化が0.2 mg/m³まで認められた。したがって無毒性量(NOEL)は設定できず、最少毒性量(LOEL)は0.2 mg/m³と考えられた。

(本研究は厚生労働省委託研究、ナノマテリアルの吸入曝露試験として実施した)

P-22 多層カーボンナノチューブの肺ばく露2週間および52週間経過後の影響

○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⁾名古屋市立大学 津田特任研究室

MWCNTの長さや肺障害性との関連、肺ばく露後の長期経過の影響については不明な点が多い。ふるい板を使って分画化し、長さの違いによる肺組織、細胞増殖、遺伝子発現への影響を検討した。ふるい板(25 µm)を使いMWCNTを濾過(FT)、非濾過(R)および原液(W)に分画化し、各分画をラット肺内に噴霧あるいは細胞にばく露した。雄F344ラットに2週間で計8回(計1.0 mg)肺内噴霧し、短期試験では噴霧開始後2週目で、長期試験では52週目で剖検、肺を組織学的に調べた。各分画(10 µg/mL)を培養肺マクロファージにばく露し、その培養上清を用いてヒト肺がん細胞株A549の増殖を検討した。マイクロアレイにてMWCNTばく露により発現促進を受ける遺伝子と肺組織で分子発現への影響を調べた。FTの平均長(2.6 µm)はWの平均長(4.2 µm)よりも有意に短く、共に正規分布した。短期試験の肺組織では炎症細胞浸潤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。分画間での炎症面積差はなかった。長期試験の肺組織では3分画曝露共に肉芽組織とfocal fibrosisを認めた。3分画共に有意に肉芽組織の面積およびfocal fibrosisの数が増加した(分画間の有意差なし)。各分画ばく露後培養上清を用いた実験では、A549の増殖は約20%増加した(分画間の有意差なし)。マイクロアレイでは、Csf3、IL6、Ccl4およびCxcl2が抽出された。培養肺マクロファージおよび短期試験の肺組織においてCsf3、IL6、Ccl4、Cxcl2遺伝子のmRNAおよびタンパク発現はいずれの分画も増加した。以上より、長さの異なるMWCNTのばく露は、短期試験での肺における炎症の程度に影響した。各分画のばく露は細胞増殖や炎症に関連する遺伝子発現を促進した。肺内にばく露されたMWCNTは長期にわたり肺内にとどまることが示された。腫瘍性病変との関連については今後の経過(104週)を観察する必要がある。

P-23 ナノ材料の吸入曝露後、長期間経過して発生するリスクの背景となる肺組織の検索○二口 充¹⁾、徐 結荷²⁾、深町 勝巳¹⁾、津田 洋幸²⁾、酒々井 眞澄¹⁾¹⁾名古屋市立大学大学院医学研究科 分子毒性学分野、²⁾名古屋市立大学 津田特任研究室

アスベストの吸入曝露による健康被害は曝露から20年以上経過して発症するため、ナノ材料の吸入曝露のリスクにおいても長期間経過した後の発生が危惧されている。我々は、吸入曝露後、長期間経過して発生するリスクを検索する目的で、噴霧直後および長期間経過した時点のそれぞれにおいて、肺における炎症反応、誘導されたマクロファージの数およびそのタイプの変化を検索した。日機装製単層および多層カーボンナノチューブ (SWCNT-N, MWCNT-N)、三井製多層カーボンナノチューブ (MWCNT-M) およびアスベストであるクロシドライト (CRO) を、250ug/mlの濃度で生理食塩水/0.05%Tween20に懸濁し、10週齢の雌SDラットに肺内噴霧ゾンドを用いて1回あたり0.5ml噴霧した。9日間に合計5回噴霧し、最終噴霧から6時間後および30日後に屠殺剖検し肺を組織学的に検索した。噴霧直後の肺組織では、いずれの群でも多数のマクロファージが比較的強い炎症を伴う像が観察されたが、噴霧後30日経過すると、SWCNT-NおよびMWCNT-Nでは異物反応が遷延していたが、他の噴霧群では炎症性変化はほとんど観察されなかった。肺野に誘導されたマクロファージの数は、曝露直後ではいずれの群でも溶媒対照群にくらべ優位に増加していたが、曝露後30日経過した時点では、溶媒対照群、MWCNT-MおよびCROではそれぞれ42%、44%および42%減少し、SWCNT-NおよびMWCNT-Nではそれぞれ18%および23%減少した。さらにM2型マクロファージのマーカーであるCD163染色による検索では、いずれの噴霧群でも噴霧直後で散見されたCD163陽性マクロファージが、噴霧後30日経過した時点ではほとんど観察されなかった。これらの結果から、曝露直後と曝露後長期間経過した時点では、被研物質によってマクロファージの反応は大きく異なり、曝露直後のリスク評価のみならず曝露後長期間経過した時点でのリスク評価の必要性が示唆された。

P-24* ラットを用いた3-MCPDエステル化合物の13週間亜慢性毒性試験○大波 冴子¹⁾、Cho Young-Man¹⁾、豊田 武士¹⁾、吉田 緑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

3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) は、げっ歯類の腎臓および精巣への発癌性が報告されている。一方、そのエステル化合物は食品の製造過程で副産物として発生し、様々な食物やその原料に含まれているが、その毒性に関する報告はほとんど無い。そこで我々はこれらの物質の毒性学的影響について、ラットを用いた13週間亜慢性毒性試験を行った。6週齢のF344ラット(雌雄各群10匹)に、発癌用量 (3.6×10^{-4} mol/kg bw) の3-MCPDと3種のエステル化合物 (3-MCPD palmitate diester, 3-MCPD palmitate monoester, 3-MCPD oleate diester) を、等モル濃度を高用量として公比4で3用量、週5回13週間反復胃内投与した。その結果、最終体重については、雌雄とも有意な差異は見られなかった。腎臓の相対・絶対重量は、すべてのエステル化合物の中高用量群において、溶媒対照群と比較して有意な増加を示し、肝臓の相対重量は、雌の3-MCPD palmitate monoester群を除く、エステル化合物の高用量群で、溶媒対照群と比較して有意な増加を示した。病理組織学的解析では、すべてのエステル化合物の高用量群において、雌の腎臓の鉍質沈着、および、雄の精巣上部頭部腺上皮のアポトーシスが溶媒対照群と比較し有意に高率に認められた。また、3-MCPD投与群では、4週目までに死亡した全ての動物(雄1匹、雌5匹)に腎尿細管壊死を認め、13週時点では腎臓の相対・絶対重量の有意な高値と、雄の精巣上部におけるアポトーシスを有意に高率に認めた。以上の結果より、これらのエステル化合物の高用量投与によって、3-MCPDとほぼ同様に、ラットの腎臓と精巣上部に毒性影響を及ぼすことが示された。本試験のNOAELは、3-MCPD palmitate diesterは14 mg/kg/day、3-MCPD palmitate monoesterは8 mg/kg/day、3-MCPD oleate diesterは15 mg/kg/dayであった。

P-25* F344ラットにおけるグリシドール脂肪酸エステルの13週間反復投与毒性試験

○豊田 武士¹⁾、Cho Young-Man¹⁾、大波 冴子¹⁾、水田 保子¹⁾、赤木 純一¹⁾、鈴木 勇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

【背景】グリシドール脂肪酸エステル (Glycidol fatty acid ester; GE) は食用油の製造過程において生じる副生成物で、ジアシルグリセロール (DAG) を主成分とする油などに比較的高い濃度で含まれることが近年明らかとなっている。GEは体内で加水分解を受け、発癌性を有するグリシドールに変化する可能性があることから、生体に対する毒性影響が懸念されている。本研究では、DAG油に含まれるGEのうち、グリシドールオレイン酸エステル (GO) およびリノール酸エステル (GL) の2種について、F344ラットに対する13週間反復投与毒性試験を実施した。

【方法】6週齢、雌雄のF344ラットに、GOおよびGLを0.03% Tween 80を溶媒として225、900、3600 (グリシドール換算で800 ppmと等モル) ppmの濃度で13週間飲水投与した。無処置群および溶媒対照群に加えて、比較対象として800ならびに200 ppmグリシドール投与群を併せて設置した。各群10匹を用い、血液学的・血清生化学的・病理組織学的検索を行った。

【結果と考察】800 ppmグリシドール群において、雌雄ともに有意な体重増加抑制が認められた。血液学的検査では、800 ppmグリシドール群の雌でMCV値の増加、高用量GO群の雌で白血球数の減少が見られた。血清生化学的検索では、T-Chol増加・カリウム値増加・ALT減少がそれぞれ雄800 ppmグリシドール群・雄高用量GL群・雌800 ppmグリシドール群で認められた。血清クレアチニンは800 ppmグリシドールによって雌雄ともに低下した。腎・脾の相対重量はグリシドールを投与した雄の両群、雌の800 ppm群で有意に上昇した。腎相対重量の増加は雄の高用量GO群でも見られた。病理組織学的検索では、腎臓に著変は見られず、雄800 ppmグリシドール群で精巣上体管内における細胞残渣の増加が認められたが、GOならびにGL群では観察されなかった。以上の結果から、精巣毒性および*in vivo*遺伝毒性についてより詳細な解析が必要であるが、GOおよびGLはグリシドールと比較しF344ラットに対しての毒性は低いことが示唆された。

P-26* 異なるフタル酸エステルのラットへの90日間併用混餌投与による肝臓と雄性生殖器への影響の用量反応性

○鈴木 和彦¹⁾、谷合 枝里子^{2,3)}、盛田 怜子^{2,3)}、八舟 宏典^{2,3)}、三森 国敏⁴⁾、渋谷 淳²⁾

¹⁾東京農工大学 獣医毒性、²⁾東京農工大学 獣医病理、³⁾岐阜大学連合大学院、⁴⁾食品安全委員会

【背景】昨年度の本学術集会においてフタル酸ビス (2-エチルヘキシル) (DEHP) とフタル酸ジヘプチル (DHP) のラットへの90日間併用混餌投与により、肝臓においてはDEHPによるPPAR α 非依存的なDHP誘発性肝前がん病変形成への干渉作用が、精巣ではPPAR α 活性に関連した精細管萎縮に対する相加あるいは増強作用がそれぞれ認められることを報告した。今回はDHP誘発肝病変に対するDEHPによる干渉作用と精巣におけるDEHPとDHPによる相加あるいは増強作用に対する用量反応性の検討を目的として、DEHPのみ (12,000 ppm、24,000 ppm)、DHPのみ (10,000 ppm、20,000 ppm)、DEHP + DHP (12,000 ppm + 10,000 ppm、12,000 ppm + 5,000 ppm、12,000 ppm + 2,500 ppm、12,000 ppm + 1,250 ppm、6,000 ppm + 10,000 ppm、3,000 ppm + 10,000 ppmあるいは1,500 ppm + 10,000 ppm) をラットに90日間併用混餌投与を行なった。

【結果】肝臓ではDEHPのみ 12,000 ppm以上で肝細胞の好酸性化を伴う肝細胞肥大、DHPのみ 10,000 ppmで肝細胞の腫大・空胞化がそれぞれ見られた。また、DHPによる肝細胞の変化ならびにGST-P陽性肝細胞巢およびKi-67陽性細胞数の増加に対しては、DEHP との併用による抑制作用が1,500 ppmから用量依存性に見られ、DEHP 12,000 ppmの併用で完全に消失した。精巣においてはDEHP 24,000 ppmとDEHP 12,000 ppm + DHP 10,000 ppmにおいてのみ精巣の絶対重量の低下および精細胞の脱落を主としたびまん性の精細管萎縮を認めた。DEHP 12,000 ppm とDHP 1,250~5,000 ppm併用群では精巣辺縁の一部でごく軽度の精細管萎縮のわずかな用量依存性増加を認めたが、DHPのみならびにDHP 10,000 ppmとDEHP 1,500~6,000 ppm併用群では変化が認められなかった。

【まとめ】肝臓ではDEHPによるPPAR α 非依存的なDHP誘発性肝前がん病変形成への干渉作用には低用量域からの用量反応性が認められた。精細管萎縮に関しては主に高用量域におけるDEHPへのDHPの作用は、相加作用ではなく増強作用であった。

P-27* *Coptis chinensis*のF344ラットを用いる90日間反復投与毒性試験および遺伝毒性試験

○Kim Myoung Jun¹⁾、Lee Yong-Hoon¹⁾、Kim Duyeol¹⁾、Park Sun Hee¹⁾、Lee Hye-Yeong¹⁾、Lee Mi-Young¹⁾、Lee Mi Ju¹⁾、Han Beom Seok²⁾、Kwon Min²⁾、Sohn Woo Chan³⁾、Seok Ji Hyeon⁴⁾、Lee Jong Kwon⁴⁾、Jeong Jayoung⁴⁾、Kang Jin Seok⁵⁾、Kang Jongkoo^{1,6)}

¹⁾Department of Pathology, Biototech Co. Ltd., ²⁾Hoseo University Biomedical Laboratory Science,

³⁾Asan Medical Center, ⁴⁾Korea Food and Drug Administration, ⁵⁾Namseoul University,

⁶⁾ChungBuk National University

Coptis chinensis has been widely used in oriental medicine and it has been known to have some pharmacological effects such as antibacterial, antiviral, anti-inflammatory activities. However, its toxicity has been yet fully elucidated. In the present studies, we carried out a 90-day repeated dose toxicity study of *Coptis chinensis* (orally five times per week at doses of 25, 74, 222, 667 and 2,000 mg/kg) using in F344 rats and its mutagenic potential in 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, micronucleus test using ICR mice and mammalian cell gene mutation test using the L5178Y/TK^{+/-} mouse lymphoma). Decreased body weights in males of 2,000 mg/kg group during 9 to 12 week ($P < 0.005$), decreased food consumption in both sexes of 2,000 mg/kg group on 1 week ($P < 0.005$), increased N-Acetyl-β-Glucosaminidase (NAG) in males of 2,000 mg/kg group ($P < 0.001$), and increased creatinine in both sexes of 2,000 mg/kg group ($P < 0.005$) were relevant. For genotoxicity study, the bacterial reverse mutation test was positive at doses of 313 μg/plate in TA, and 625, 1,250, 2,500 μg/plate in WP2uvrA, However, it did not have any evidence for chromosome aberration and micronucleus formation.

Thus, the no-observed-adverse-effect level (NOAEL) of *Coptis chinensis* in F344 rats is considered 667 mg/kg. For genotoxicity study, *Coptis chinensis* did not show the mutagenic potential, chromosome aberration and micronucleus formation.

P-28* 急性および反復経口投与神経毒性試験における病理学的変化の背景データ

○相馬 克実、高橋 尚史、嶋田 悠子、小山 彩、桑原 真紀、小松 豊、藤江 秀彰、元村 淳子、首藤 康文、吉田 敏則、中島 信明、青山 博昭、原田 孝則

(一財) 残留農薬研究所

【背景】神経毒性試験の実施にあたっては標本作製過程におけるアーティファクトと病変との鑑別、背景病変の蓄積や陽性対照物質を用いた種々の神経解剖学的部位における特有の病変についての知識が必須である。今回、ラットの神経毒性試験における背景病変および陽性対照物質による神経病理学的変化について、系統および週齢により比較したので報告する。

【方法】背景病変の比較には急性および28あるいは90日間反復経口投与神経毒性試験に供した対照群のF344, SD, Wistarラットを用いた。また、陽性対照物質にはトリメチルスズ、アクリルアミド、ヘキサクロロフェン等を用いた。飼育期間中、神経毒性試験ガイドラインに準拠し、動物の詳細な観察や機能検査を実施した。飼育期間後、動物はヘパリンNa添加0.1Mリン酸緩衝液を用いて全身灌流後、リン酸緩衝1%グルタルアルデヒド・2%パラホルムアルデヒド混合液で灌流固定した。中枢神経、眼球および腓腹筋については定法に従ってパラフィン包埋・HE標本作製を行い、末梢神経はエボン包埋後、トルイジンブルー染色を行った。

【結果】中枢神経では、橋の台形体や脊髄の頸および腰膨大部に比較的多くの神経線維(軸索)変性がみられ、Wistarラットでは橋台形体の病変が他の系統より少なかった。眼球では網膜の低形成、異形成等の変化が観察され、SDラットで病変が少ない傾向にあった。末梢神経では、坐骨および脛骨神経に髓球の形成を伴う神経線維(軸索)変性が認められた。陽性対照物質では、神経細胞の変性・壊死、白質における脱髄、末梢神経の変性等の変化が観察された。なお、灌流固定によるアーティファクトは脊髄においてみられやすい傾向にあった。

【考察】全身灌流固定を施した神経系の組織ではアーティファクトが発生しやすい部位があり、それらと神経病変との見極めが重要であり、陽性対照物質を用いた典型病変の観察を通じてより正確な神経病変の抽出ができるよう研鑽していくことが重要であると考えられた。

P-29* クプリゾン投与マウスの脱髄及び再髄鞘化過程の超微形態学的解析

○中村 隆一、西村 友成、落合 忍仁、幸田 修一、小笠原 裕之

アスピオファーマ(株)

【目的】クプリゾン (CPZ) は銅イオンのキレート剤であり、CPZを数週間げっ歯類に投与すると、脳のオリゴデンドロサイトを障害して脱髄を誘発する。今回、CPZをマウスに負荷し、脱髄と再髄鞘化の経時的变化について超微形態学的に解析した。

【方法】C57BL/6マウスに0.2%CPZを5週間混餌投与し、脳を採取した。採取した脳は常法に従い、クリューバーバレーラ (KB) 染色及びmyelin basic protein (MBP)免疫染色を施し、病変部位を解析した。また、0.2%CPZを1~4週間投与した個体又は5週間投与終了後0~14日間経過した個体について、KB染色を施して脱髄又は再髄鞘化過程を観察するとともに、透過型電顕 (TEM) を用いて神経軸索、髄鞘及びグリア細胞を超微形態学的に解析した。

【結果】C57BL/6マウスに0.2%CPZを5週間混餌投与後、脳の脱髄誘発部位を検討したところ、CPZの脱髄感受性が高い領域は、脳梁膨大部、脳梁漆及び小脳核周辺であった。次いで脳梁膨大部において、5週間投与終了後の脱髄の回復性をKB染色により評価したところ、投与終了後0日には脱髄及びグリア細胞の浸潤がみられ、投与終了後10日以降に脱髄病変部の再髄鞘化傾向がみられた。TEM解析では、投与終了後0日において、脱髄やグリア細胞浸潤に加え、神経軸索のミトコンドリアの腫大や髄鞘と軸索間の空隙形成が観察され、投与終了後10日頃から多層のミエリン構造を有する髄鞘の形成が認められた。0.2%CPZの1~4週間投与による脱髄過程の解析結果も併せ、マウスのCPZ投与による脱髄及び再髄鞘化過程の超微形態学的な特徴について報告する。

P-30* グリシドールのラットへの28日間反復投与による海馬歯状回におけるニューロン新生に対する影響○赤根 弘敏¹⁾、齋藤 文代²⁾、白木 彩子^{1,3)}、赤堀 有美²⁾、今田中 伸哉²⁾、板橋 恵^{1,3)}、Wang Liyun¹⁾、鈴木 和彦¹⁾、三森 国敏¹⁾、渋谷 淳¹⁾¹⁾東京農工大学 獣医病理学研究室、²⁾化学物質評価研究機構 安全性評価技術研究所、³⁾岐阜大学大学院 連合獣医学研究科

【目的】グリシドールは、食用油の合成工程で副生成物として混入されるグリシドール脂肪酸エステル類の代謝によって生成される。先の我々の研究で、グリシドールのラット発達期暴露により、108.8 mg/kgの飲水投与において母動物での中枢及び末梢神経系での軸索変性及び児動物での海馬歯状回顆粒細胞層下帯 (SGZ) における分化後期の細胞を標的としたニューロン新生の異常を誘発することが明らかになった。本研究では発達期神経毒性と同様の影響が28日間反復毒性試験において検出可能であるかを検討するために、成獣動物の海馬歯状回でのニューロン新生に対する影響について検討した。

【方法】5週齢の雄SDラットにグリシドール0、30及び200 mg/kgを28日間反復強制経口投与した。脳、坐骨神経及び三叉神経の病理組織学的検査を行い、neurofilament-L (NF-L)、dpsyl3 (TUC-4)、doublecortin (DCX)、NeuN、reelin及びcalretinin抗体を用いた脳の免疫組織学的検査並びにTUNEL法によるアポトーシス数の検索を行った。

【結果】200 mg/kg群で歩行異常が認められ、NF-L抗体を用いた免疫染色による小脳の顆粒細胞層でのスフェイド形成、三叉神経の神経節細胞での中心性色質融解、坐骨神経での軽度の軸索変性により、軸索傷害が認められた。SGZでのTUC-4及びDCX陽性細胞数の減少、歯状回門でのNeuN、calretinin及びreelin陽性細胞数の増加によるニューロン新生の異常がみられた。SGZでのPCNA及びTUNEL陽性細胞数には影響は認めなかった。

【考察】グリシドールは28日間反復毒性試験においても、発達期暴露実験と同様に、SGZでの神経突起形成過程を含む分化後期の細胞 (未熟顆粒細胞及びtype-3前駆細胞) を標的としたニューロン新生が抑制されることが示唆された。

P-31* Similar Expression Change of Midline1 on Neuronal Stem/Progenitor Cells Between Developmental and Adult-stage Hypothyroidism in the Dentate Gyrus in Rats

○Wang Liyun¹⁾、白木 彩子^{1,2)}、赤根 弘敏¹⁾、板橋 恵^{1,2)}、鈴木 和彦¹⁾、三森 国敏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

We previously clarified different impact on neurogenesis and similar changes of GABAergic interneurons in the dentate gyrus (DG) between developmental and adult-stage hypothyroidism exposed to methimazole (MMI) in rats. In another study of developmental exposure to manganese (Mn) in mice, we identified Mid1 showing hypermethylation of the promoter region in the DG and midline1-positive cells distributing with right side predominance in the subgranular zone (SGZ) stem/progenitor cells in untreated offspring; however, Mn-exposure canceled this asymmetry to the adult stage. In the present study, we examined the distribution of midline1 cells in the DG after developmental and adult-stage hypothyroidism, performed using pregnant rats exposure to MMI at 50 and 200 ppm in the drinking water from gestation day 10 to postnatal day (PND) 21 (developmental hypothyroidism) and adult male rats from PND 46 to PND 77 (adult-stage hypothyroidism). Offspring with developmental hypothyroidism at PND 21 or PND 77, and animals with adult-stage hypothyroidism at PND 77 were immunohistochemically examined. As well as in mice, rats also expressed midline1 in the SGZ stem/progenitor cells with right side predominance in untreated controls. By both developmental hypothyroidism and adult-stage hypothyroidism, midline1-positive cells significantly decreased with MMI at both 50 and 200 ppm, and MMI-exposure canceled this asymmetry to the adult stage. These results suggest that developmental and adult-stage hypothyroidism cause permanent cancellation of bilateral difference of neurogenesis probably through disruption of epigenetic gene control of midline1-expression.

P-32 針状粒子TISMOの胸腔内投与による胸膜中皮細胞の反応性変化についてのマウス系統差

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

¹⁾香川大学 医学部 腫瘍病理学、²⁾回生病院 病理診断科

【目的】これまで、TISMO (針状酸化チタン微粒子) による胸膜悪性中皮腫の発生について、雌性A/Jマウスでの長期(52週)における胸膜の変化を検討してきた。病理組織像では肥厚した胸膜に異型を伴う中皮細胞が散見されるものの、明らかな悪性中皮腫の発生は確認できなかった。一方で胸腔内に投与されたTISMOは、肝臓や腎臓でもその存在が病理組織学的に確認された。さらに肝臓では針状粒子の周囲で反応性の微小なリンパ球浸潤巣の形成が認められた。今回、雌性A/Jマウスに加え、雌性C3H/HeN、ICR、およびC57BL/6マウスを用いて、TISMOに対する中皮細胞およびその他の反応性変化の系統差について検討を行った。

【方法】胸腔内に3mgのTISMOをそれぞれ各系統マウスの胸腔内に直接投与し、実験開始21週目における胸膜、肝、腎の変化について、肉眼的ならびに病理組織学的な検討を行った。

【結果】TISMOによる胸膜肥厚に系統差は明らかでなかったものの、胸膜でのリンパ球浸潤や鉄の沈着の程度に差が認められた。また、肝臓でもTISMO粒子が見られたが、肝臓におけるTISMO粒子周囲でのリンパ球浸潤や鉄の沈着の程度についても系統差が認められた。

【考察】TISMO胸腔内投与により、胸膜および肝臓においてリンパ球浸潤や鉄の沈着の程度に系統差が認められたが、この系統差は、胸膜と肝臓ではその傾向は一定ではなかった。例えば、ICRマウスでは胸膜で強いリンパ球浸潤が見られたが、肝臓ではTISMO周囲のリンパ球浸潤はわずかであった。C3H/HeNは肝臓でTISMO周囲に強い鉄染色陽性像を示したが、胸膜では陽性像は少なかった。以上がどのような毒性学的意味を持つかについては、さらに長期間の実験が必要である。

【結論】TISMOの胸腔内投与よりその反応に明瞭な系統差が認められ、胸膜悪性中皮腫の発生を検討する上で重要な情報であると考えられた。

P-33* DHPN誘発肺発癌における慢性炎症の影響 —F344ラットおよびWistar-Hannoverラットの系統差—

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

¹⁾香川大学 医学部 腫瘍病理学、²⁾回生病院

Quartz粒子を気管内投与することにより、ラットの肺に持続的な慢性炎症をきたすことはすでに知られている。昨年、我々は、肺発癌過程における慢性炎症の影響を検討する目的でF344ラットとWistar-Hannoverラットを用い、quartzの気管内投与による慢性炎症がDHPN誘発肺腫瘍形成にどのように影響を及ぼすかについて、主として肺腺腫を指標とした実験系として25週間での検討を報告した。今回、同様の実験系で、肺腺腫を含めた肺腫瘍全体を指標とした実験系として52週間での検討を行ったので報告する。

6週齢の雄性F344ラット(1,3,5,7群)及びWistar-Hannoverラット(2,4,6,8群)を用い、1~4群では実験開始から2週間、0.1% DHPNを飲水投与し、さらに、1,2,5,6群に対して4週目に2 mg quartz/0.2ml saline/ratの気管内投与を行った。実験開始52週目に採血および気管支肺胞洗浄液(BALF)の採取後、屠殺剖検した。病理学組織学的検討では、肺腫瘍の病理組織学的分類とともに腫瘍発生頻度ならびに腺癌の面積の検討を行った。

その結果、BALFのIL-6の濃度は両系統ともquartz投与群がsaline投与群と比べて有意な増加を示した。また、BALFの細胞分画では、quartz投与群において、F344ラットでは好中球、リンパ球、好酸球の割合が有意に増加し、Wistar-Hannoverラットで好中球と好酸球の割合が有意に増加した。病理組織学的所見ではquartz投与群で肺実質に強い炎症細胞浸潤がみられ、さらにF344ラットはWistar-Hannoverラットに比べ、より炎症像が強い傾向であった。腫瘍発生の系統差を比較すると、DHPN+quartz投与群において、F344ラットがWistar-Hannoverラットに比べ、腺癌の発生頻度が有意に増加していた。腺癌の大きさは両系統ともDHPN+quartz投与群のほうが大きい傾向があり、F344の方がWistar-Hannoverよりも大きかった。

以上の結果より、F344ラットはWistar-Hannoverラットと比べ、強い炎症反応を示すとともに肺腺癌発生を含めたDHPN誘発肺腫瘍に対するプロモーション作用も強いことが示唆された。

P-34 Benzo[a]pyreneとDextran sulfate sodiumを用いたマウス大腸発がんモデルの研究：マウス系統間比較

○園田 二郎¹⁾、武田 賢和¹⁾、羽倉 昌志¹⁾、小山 直己¹⁾、細川 暁¹⁾、関 由妃¹⁾、猪又 晃¹⁾、中野 今日子¹⁾、太田 恵津子¹⁾、後藤 彩¹⁾、早川 和宏²⁾、朝倉 省二¹⁾、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

【目的】我々は、CD2F1マウスにbenzo[a]pyrene (BP) 125mg/kg経口投与後、4% dextran sulfate sodium (DSS) を飲水投与することにより、BP投与開始から4週間で高率に腫瘍性病変が発現することを見出し、BP/DSSマウス大腸発がんモデルを樹立した。今回、本モデルの機序解明の一助とするため、CD-1 (ICR) マウスを用いてBP/DSS処理による腫瘍発生に対するマウスの系統間差について調べた。

【方法】実験1：DSSに対する感受性を調べるため、7週齢のCD-1雄マウス(各群5匹)に3%、4%または5%DSS水溶液を7日間飲水投与し、生死確認及び症状観察を実施した。実験2：実験1の結果をもとに、7週齢のCD-1雄マウス(各群5匹)にBP 125mg/kgを5日間経口投与した後、2%または2.5%DSS水溶液を7日間飲水投与した。DSS最終投与から4週間後に摘出した結腸の病理組織学的検索を行い、以前実施したCD2F1マウスにおける結果と比較検討した。

【結果及び考察】実験1：3%、4%及び5%DSSのいずれの用量においても死亡例(1-2/5例)が認められたため、実験2ではDSS濃度を2%及び2.5%とした。実験2：BP/2%DSS群では、1/5例でAdenoma、他の1/5例ではAdenoma及びAdenocarcinomaが認められた。これらの動物では軽度な大腸炎及びDysplasiaもあわせて認められた。一方、BP/2.5%DSS群では、2/5例がDSSの投与終了数日後に死亡した。生存した1/3例で、大腸炎及びDysplasiaに加えAdenoma及びAdenocarcinomaが認められた。今回、CD-1マウスにおいてもBP/DSS処理により短期間に腫瘍性病変が認められることが確認された。以前実施したCD2F1マウスを用いた試験結果と比較し、CD-1マウスはDSSに対する感受性が高いこと、及びBP/DSS処理による腫瘍発生頻度が低いことが示された。以上よりBP/DSS処理による大腸腫瘍発生において、マウス系統差が存在することが示唆された。今後、マウス系統差の原因について詳細に検討し、BP/DSS誘発大腸発がんモデルの発がん機序解明の手がかりとしたいと考えている。

P-35 ラット卵胞の形成および発育における系統差の検索

○桑原 真紀、嶋田 悠子、相馬 克実、小山 彩、高橋 尚史、吉田 敏則、千葉 悠子、荒木 雅行、
中島 伸明、青山 博昭、原田 孝則

(一財) 残留農薬研究所 毒性部 病理研究室

【背景】ラットを用いた繁殖毒性試験では、繁殖能検査項目である黄体数や産児数に加え、成熟卵巣の原始卵胞数にも系統差が認められる。また、一般毒性試験では経年による卵巣の形態変化に系統差が見られる。この系統差を明確に把握するための試みとして、生後4日齢、17週齢ならびに1および2年齢のラットについて各成熟段階の卵胞(主として原始卵胞)を計数し、系統差を評価した。

【方法】4日齢では、WistarおよびSDラットの卵巣から連続切片を作製し、最長径を含む各個体1切片について原始および一次卵胞を計数し、全卵胞数に対する百分率を算出した。17週齢では、Wistar, SDおよびF344ラットについて、繁殖毒性試験で要求される方法に準じて原始卵胞総数を計数した。1および2年齢では、3系統のラットの卵巣の長径を含む各個体1切片について性周期ごとに小型、中型および大型卵胞の数を計数した。

【結果】4日齢：卵胞総数に系統差はなかったが、SDラットで一次卵胞の割合が多く、Wistarラットよりも卵胞の発達が進んでいることが示された。17週齢：F344およびWistarラットの原始卵胞数に大きな差はなかったが、SDラットではこれら2系統の約1.5倍の原始卵胞が観察された。1年齢：原始卵胞数は、F344ラットで最も多く、WistarおよびSDラットの2倍弱の残存が見られた。2年齢：1年齢と同様にF344ラットの残存原始卵胞数が3系統のうちで最も多かった。

【考察】4日齢すなわち原始卵胞プールが決定した段階では、WistarおよびSDラットの間に大きな卵胞数の差はなかった。したがって、17週齢で見られた系統差は、性周期開始後の卵胞消費効率の差によるものと考えられた。1および2年齢については、さらに経年性の卵巣萎縮の系統差が関与する段階であることから、閉鎖ないし無卵小型卵胞などの組織学的な差も加え検討する必要があると考えられた。

P-36* SDラットに自然発生性に認められた巨核球低形成の一例

○栃谷 智秋、岡村 啓史、豊沢 かおる、松本 泉美、河内 眞美、木村 重紀、船橋 斉

大日本住友製薬(株) 安全性研究所

巨核球系細胞の自然発生病変は実験動物において報告が少なく、その発生機序についても不明な点が多い。今回我々は、SDラットにおいて自然発生性の巨核球低形成の一例を認めたため報告する。SDラットにおける同様の病変の自然発生は、現在までに報告がなされていない。

【症例】本例は10週齢時に剖検された雌のCrl:CD (SD) ラットであり、体重、摂餌量、摂水量に異常は認められなかった。剖検時、肺に暗赤色巣が認められ、血液学的検査では血小板数の顕著な低値($59 \times 10^3/\mu\text{L}$)が認められた。器官重量、血液化学的検査では、同週齢のSDラットと比較して明らかな差は認められなかった。

【病理学的特徴】骨髄および脾臓では、同週齢のSDラットと比較して巨核球数が明らかに少なかった。骨髄についてvon Willebrand factorに対する免疫染色を実施したところ、陽性を示す巨核球が少ないことが確認された。認められた巨核球についてはPCNA陽性率に明らかな異常は認められなかったものの、細胞径が小さく、核の分葉も乏しい傾向が認められた。骨髄における巨核球以外の造血細胞では、細胞密度、M/E比および成熟度に明らかな異常は認められなかった。この他の臓器では、肺暗赤色巣部および腺胃粘膜において出血が認められた。

【まとめ】本例では造血組織において巨核球のみ細胞数が明らかに少なかったことから、巨核球低形成と診断し、血小板数の低値はこれに起因するものと判断した。巨核球の細胞径が小さく、核の分葉も乏しいことから、低形成の原因として分化・内分裂の障害が考えられた。分化・内分裂障害の原因としてThrombopoietinあるいはその受容体の異常が疑われたため、これらの可能性について現在検討中である。

P-37* Capillaria hepatica実験感染モデルにおいて、Th2に偏向した宿主免疫はCG血症発症を促進する

○山田 萌¹⁾、相原 尚之²⁾、檜村 茜²⁾、上家 潤一²⁾、代田 欣二¹⁾

¹⁾麻布大学 生物科学総合研究所、²⁾麻布大学 獣医学部 病理学研究室

【目的】 II型クリオグロブリン (CG) 血症の病理発生機序の詳細は未だ解明されていない。本研究では免疫応答性の異なるマウス系統における*Capillaria hepatica* (*C. hepatica*) 感染により発症するII型CG血症の病態比較を行い、発症に関与する宿主要因を明らかにすることを目的とした。

【方法】 ICR、C57BL、BALB/cの3系統に*C. hepatica*幼虫形成卵5000個を経口接種し、接種後20、24日に採血、全身諸臓器を採材した。CG形成試験および病理組織学的検索を行った。Th1/Th2バランス、脾臓リンパ球の構成を明らかにするために、リンパ球の免疫表現型をフローサイトメトリーおよび共焦点レーザー顕微鏡を用いて解析した。血清IL-5濃度をELISAで定量した。

【結果】 全系統においてII型CG血症を発症した。他系統と比較して、BALB/cにおいてCG形成量、組織沈着量が有意に高かった。脾臓ではIL-4⁺CD4⁺細胞の割合が有意に増加するが、ICRおよびC57BLでは増加を認めなかった。非感染群と比較して、BALB/cの脾臓のIgM⁺κ⁺B細胞の増加、組織における好酸球増加および血清IL-5レベルの上昇が認められた。また脾臓で増加するB細胞はIgM⁺κ⁺CD45R/B220⁺CD5⁺の表現型を示すB-1a細胞であり、IL-5受容体を発現していた。

【考察】 *C. hepatica*感染により、顕著なTh2-typeの免疫応答を示すBALB/cで高度なCG血症が発症した。さらに脾臓において増加するIgM⁺κ⁺B細胞はIL-5受容体を細胞表面に発現するB-1a細胞であり、本細胞がCG産生細胞であることが示唆された。感染マウスで上昇したIL-5は、B-1a細胞の増殖因子として報告されている。今回の結果は、Th2に偏向した宿主免疫環境下において、IL-5刺激によるB-1a細胞の増殖がCG血症発症に関与することを示唆する。

P-38* 組み換えヒトインターロイキン-2のラットを用いる4週反復静脈投与毒性試験

○Lee Mi Ju¹⁾、Park Sun Hee¹⁾、Kim Myoung Jun¹⁾、Kim Hye-Jin⁴⁾、Li Yinghua¹⁾、Ko Kyeong-Nam¹⁾、Kim Duyeol¹⁾、Lee Yong-Hoon¹⁾、Kim Sun-Hee¹⁾、Jang Ho-Song¹⁾、Baik Yeongjun²⁾、Lee Sunghee²⁾、Kang Jin Seok³⁾、Kang Jong-Koo⁴⁾

¹⁾Department of Pathology, Biototech Co. Ltd., ²⁾BMI Korea、

³⁾Department of Biomedical Laboratory Science, Namseoul University、

⁴⁾College of Veterinary Medicine, ChungBuk National University

Interleukin-2 (IL-2) is a lymphokine with a potential role in cancer therapy. Many clinical trials of recombinant human IL-2 (rhIL-2) have been conducted to treat malignant renal carcinoma, melanoma, leukemia, lymphoma, multiple myeloma. BMI Korea has developed a method to manufacture rhIL-2 in bulk using *Escherichia coli* as a biosimilar. Prior to conducting human clinical trials, 4-week repeated toxicity study of rhIL-2 was conducted. In this study, rhIL-2 was administered intravenously to rats at doses of 9×10⁶, 18×10⁶, and 36×10⁶ IU/kg/day over a period of 4 weeks. Adverse effects were observed in RBC, HGB, HCT, reticulocyte, mesenteric lymph node from middle dose, and changes of total bilirubin, femoral bone marrow, thymus, and clinical signs were observed at high dose. Local irritation was determined at low dose of female rats and at middle dose of male ones. Taken together, no observed adverse effect levels (NOAEL) was determined at dose of 9×10⁶ IU/kg/day in male, and NOAEL was determined under the dose level in female rats. It suggests that present rhIL-2 is less toxic prior produced rhIL-2 and may be contribute more effective cancer-treatment strategy in human.

P-39 Wistar hanラットにおける自然発生性胸腺腫

○岩田 聖^{1,2)}、Weber Klaus^{1,2)}、Gaehle Susan¹⁾、Anzai Takayuki¹⁾、Maraschiello Ciriaco¹⁾、
Henderson Wendy¹⁾

¹⁾Harlan Laboratories Ltd、²⁾AnaPath GmbH

Wistar Han rats are an appropriate model for toxicity and carcinogenicity studies in rodents and spontaneous thymoma is sometimes recorded in carcinogenicity studies of this strain of rats. The incidence of thymoma in historical control data of Harlan Laboratories is as follows: benign thymoma 0.64% for males, 2.39% for females; malignant thymoma 0.50% for males, 0.63% for females. The incidence of benign thymoma is higher in females with a range of 0% to 17.02% in these data. Histologically, these tumors commonly appear as solitary lesions with expansive growth, consisting of a mixture of thymic epithelial cells and lymphocytes with medullary differentiation. It was not always clear and requires careful consideration to distinguish between hyperplastic lesions and benign thymoma, and also between benign and malignant thymoma for many cases. In this report, we introduce typical hyperplastic lesions, thymoma and also the rarer epithelial cell type thymoma observed in Wistar Han rats.

P-40 老齢牛眼症ウサギ4例の眼科検査と病理組織学的検討

○姚 玉林、勝田 修

参天製薬株式会社 眼科研究開発センター 安全性動態グループ

【目的】我々は、2010年本学会で、2歳未満の日本白色腫 (JW) とニュージーランドホワイト腫 (NZW) ウサギ各2例の牛眼症について報告したが、今回、同一ロットの老齢牛眼症NZWウサギ4例の眼球について眼科検査と病理組織学的解析を行ったので報告する。

【方法】3.2~3.8歳齢の老齢牛眼症NZWウサギ4例 (雄3例、雌1例) の4眼球を対象に眼圧、網膜電図 (ERG)、光干渉断層計 (OCT) による後極部の計測と病理組織学的検査を実施した。また、Vimentin、GFAPとNeurofilamentの免疫染色も行った。

【結果】4例中3例の眼圧は正常例の16.8±0.4mmHgに比べ、22.7±1.5mmHgと有意に上昇した。ERG a波、b波の振幅低下が認められ、また、OCTでは視神経乳頭陥凹、乳頭辺縁部の狭小化および網膜神経線維層の菲薄化が認められた。病理組織学的検査では、隅角線維柱帯欠損もしくは形成不全、視神経節細胞の減数および脈絡膜血管拡張が認められた。さらに、1例では限局性網膜萎縮が認められた。免疫染色では、網膜内でミュラー細胞のマーカであるVimentinの発現がほとんど変化しなかったのに対して、GFAPとNeurofilamentの発現は若年齢牛眼NZWウサギより減弱傾向が認められた。一方、眼圧上昇が認められなかった1例においては、ERG a波とb波の消失を伴って、重度の網膜萎縮および線維化が認められた。

【考察】老齢牛眼症を呈しているNZWウサギでは経ぶどう膜房水流出ルートが代償的に発達する可能性が示された。また、持続的な高眼圧によって進行性に視神経線維層の障害や代償機能が失われたと考えられる。

P-41* C57BL/6系マウスにおける実験的自己免疫性ブドウ膜炎の眼病変の病理組織学的解析

○中原 豊、斉藤 直美、春日 敏郎、黒田 佳苗、串間 清司、能登 貴久、仲辻 俊二、松本 正博
アステラス製薬(株) 安全性研究所

実験的自己免疫性ブドウ膜炎 (EAU) は、ヒトの自己免疫性眼疾患である非感染性ブドウ膜炎の実験モデルの一つである。網膜抗原の種類、動物種及び系統を工夫することで、これまでに複数のEAUモデルが考案されている。今回、IRBP (interphotoreceptor retinoid-binding protein) で免疫することにより C57BL/6系マウスに誘発したEAU眼病変の病理組織学的解析を行ったので報告する。

【方法】 10週齢のC57BL/6NCr Slc系雌性マウスに、完全フロイントアジュバントに乳濁したヒトIRBP peptideを尾根部皮下に単回投与後、百日咳毒素を腹腔内投与した。なお、同無処置動物を対照群とした。IRBP免疫後17日に、眼科学的検査を行った後、イソフルラン麻酔下で放血屠殺し両眼球を摘出した。眼球はグルタルアルデヒド・パラホルムアルデヒド混合液で固定後、常法に従いHE染色標本を作製し病理組織学的検査を行った。

【結果】 眼科学的検査において、IRBPで免疫した8/10例で炎症性病変が網膜 (白斑)、視神経乳頭 (腫脹、血管不明瞭)、網膜血管 (うっ血、血管周囲細胞浸潤) に観察された。病理組織学的検査においては、10/10例でブドウ膜 (虹彩、毛様体、脈絡膜)、網膜、硝子体における炎症細胞浸潤、並びに網膜血管周囲炎 (網膜中心動静脈を主体) が認められた。また、高度な病変では、網膜襞あるいは剥離、Dalen-Fuchs結節を伴っていた。これらの網膜及び脈絡膜病変は、視神経乳頭を中心とした後極部で顕著であり、軽度な病変では、網膜あるいは硝子体の炎症細胞浸潤、並びに血管周囲炎が視神経乳頭部に限局して観察された。

【まとめ】 C57BL/6系マウスをIRBPで免疫することによりEAUの病態が誘発され、本眼病変は、視神経乳頭部の血管を中心に炎症反応が進行し、網膜組織の構造破壊に発展することが確認された。

P-42* Hatanoラットにみられた自然発症性免疫介在性糸球体腎炎の1例

○安野 恭平¹⁾、小林 亮介¹⁾、坂下 悠¹⁾、荒木 さおり¹⁾、代田 眞理子²⁾、上家 潤一³⁾、代田 欣二^{1,3)}

¹⁾麻布大学 生物科学総合研究所、²⁾麻布大学 獣医学部 比較毒性学研究室、

³⁾麻布大学 獣医学部 病理学研究室

【背景】 ラットにおいては実験的に免疫介在性糸球体腎炎を惹起することが出来るが、自然発症例の報告はほとんどない。今回、Sprague-Dawleyラット系のHatanoラットにおいて自然発症性の免疫介在性糸球体腎炎を経験したので、その概要を報告する。

【症例】 Hatanoラット、オス、41週齢。右耳介に7 mm大の腫瘤がみられたため、剖検を行った。剖検時に腎臓の表面に不整はみられなかったが、左腎の一部に楔型の梗塞巣がみられた。尿定性検査により、タンパク尿 (500 mg/dL) が認められた。他の臓器に肉眼的異常は認められず、腹水および胸水の貯留はみられなかった。

【結果】 病理組織学的検査の結果、糸球体の係蹄壁およびメサンギウムに微細から粗大顆粒状の好酸性硝子様物質の沈着が全節性にみられ、これらはマッソン・トリクローム (MT) 染色で赤色を示した。一部の糸球体には足細胞の腫大と硝子滴変性、メサンギウムおよび係蹄での細胞外基質の増加、糸球体係蹄のボーマン嚢壁への癒着、ED1陽性マクロファージの浸潤がみられた。蛍光抗体法による検索ではIgG、IgM、C3がMT染色で観察された赤色沈着物質に一致して沈着していた。超微形態学的観察では、上皮下にdense depositの沈着がみられ、糸球体基底膜は不整に肥厚し、足細胞の足突起は扁平化していた。左腎にはさらにリンパ球の間質への浸潤と尿細管の拡張が楔状にみられた。正常ラット肝臓組織をターゲットとして血清反応を行ったが、核に反応する自己抗体は検出されなかった。その他にリンパ球性膀胱炎がみられ、右耳介の腫瘤は線維肉腫であった。

【考察】 ラットでは加齢性に慢性腎症が進行するが、これは糸球体およびボーマン嚢の基底膜の肥厚、メサンギウムの拡大を特徴とし、dense depositの沈着は顕著でないことから、本症例はラットの慢性進行性腎症とは異なる病態であると考えられた。本例はstage Iの膜性腎症であり、免疫介在性の疾患が背景病変として考えられたが、原因は不明であった。

P-43* 老齢B6C3F1マウスの腎糸球体におけるメサンギウム赤血球貪食に関する検討

○小林 亮介、山田 直明、爰島 洋子、土居 卓也、佐藤 順子、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

【背景】我々は加齢と関連したマウスの進行性糸球体腎症の様々な病変を調べる中で、赤血球がメサンギウム領域にトラップされている像を頻繁に観察した。過去の報告では、いくつかの系統のマウスにおいて糸球体腎症の進行の一因として抗赤血球自己抗体の関与が示唆されているが、このメサンギウム領域の赤血球トラップ像に関する記述は見当たらないため、その詳細を検索した。

【材料と方法】B6C3F1マウス220例(110週齢前後、雄雌各110例)の腎臓を用い、H.E染色標本にてトラップ像を観察した。また、うち14例で、PAM染色、ベルリンブルー染色、抗Iba-1抗体を用いた免疫染色を実施し、4例で透過型電子顕微鏡を用いた超微形態学的観察を行った。

【結果】220例の多くの症例でメサンギウム増殖がみられ、うち208例(94.5%)と高率に赤血球トラップ像が観察された。トラップ像は単一の赤血球が少数の糸球体に稀に観察される例から、標本上20%–30%の糸球体において複数の赤血球がみられる例まで程度は様々で、一部では多数の赤血球が血管極周囲のメサンギウム領域に集積する像、ボーマン嚢上皮における貪食像もみられた。トラップ像はPAM染色でより明瞭となり、ベルリンブルー染色では糸球体メサンギウムはいずれも陰性で、一部の症例ではIba1陽性細胞が少数観察されたが、トラップ像の頻度とは関連がみられなかった。電顕観察ではメサンギウム細胞質内において貪食された赤血球およびその小片が観察されたが、ライソソームによる融解像は観察されなかった。その他脾臓、骨髄などでは、マクロファージ系細胞における赤血球貪食像の亢進はみられなかった。

【考察】以上より老齢B6C3F1マウスの糸球体メサンギウムでは赤血球が高率に貪食されていることが明らかになった。貪食された赤血球の分解過程は不明であるが、この貪食がマウスの進行性糸球体腎症の病態に関与している可能性も考えられた。

P-44 NNK誘発マウス肺腫瘍結節内に認められた空胞に関する検討 – 症例報告 –

○山川 けいこ、岸 宗佑、二宮 芙美子、横平 政直、中野 裕子、今井田 克己
香川大学 医学部 腫瘍病理学

病理組織学的に認められる空胞はしばしばみられる所見であり、微細から大型なものまで、大きさもまたその原因も様々である。今回、われわれは、NNK誘発マウス肺腫瘍結節内に大型の空胞を多数認める症例を経験したので、空胞化と腫瘍との関連性について明らかにするため、空胞の性状や由来について検討を行った。

症例は7週齢の雌性A/Jマウスに4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) を単回腹腔内投与後52週目に発生した肺腺癌2例で、ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 材料のHE染色では腺癌結節内に大型の空胞を多数認めた。PAS、dPAS染色を行うとともに、脂肪の存在を検討するため脂肪滴膜構成蛋白質のうち成熟脂肪細胞に発現するPerilipinと脂肪滴膜に発現するAdipophilinの免疫染色を行い、さらに、FFPE材料を用いて電子顕微鏡の観察を行った。

2例とも空胞内はPAS、dPAS染色に陰性であり、粘液貯留は認められなかった。Perilipinは正常部の脂肪細胞には発現が認められたが、腫瘍結節内の空胞には発現が認められず、Adipophilinも大部分の空胞には発現が認められなかった。しかし、腺癌細胞の細胞質では、周囲の腺腫および正常細胞よりAdipophilinが高発現し、電顕像では、細胞質内に小型空胞を多数認めた。さらに、細胞質内の大型空胞による核圧排像も確認されたが、どちらの空胞内にも特記すべき構造物は認められなかった。

大型の空胞では脂肪蓄積、粘液貯留を示唆する所見は確認されなかったが、肺腺癌細胞質内にAdipophilinが高発現しており、腺癌細胞内に脂肪滴が蓄積していることが示唆された。さらに、脂肪染色が不可能なFFPE標本での脂肪の特定にAdipophilinの免疫染色が有効であることが明らかとなった。今後、空胞化と肺発がんとの関連性について検討する予定である。

P-45 胸腔および腹腔に多発したB6C3F₁マウスの中皮腫の1例

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

【目的】中皮腫はヒトやウシの他、実験動物ではラットにもしばしば発生するが、マウスでの自然発生例の報告は稀である。103週齢のB6C3F₁マウスにおいて胸腔および腹腔に多発し特異な形態を呈する中皮腫に遭遇したので、その病理学的特徴について報告する。

【症例】本例はがん原性試験に用いられ、103週齢時に瀕死解剖された中用量群の雄のB6C3F₁マウスである。剖検時に肺の結節(5×4×3 mm)、縦隔の結節(直径3 mm)、腹腔内の結節(10×9×5 mm)、リンパ節(腸間膜、脾、腎)の腫大(15×12×9 mm)、肝臓の結節(18×15×10 mm)および十二指腸の白色斑点(7×5 mm)が観察された。

【結果】病理組織学的検査において、肉眼的に観察された結節あるいは病変のうち、肝細胞癌であった肝臓結節および腺癌であった十二指腸の白色斑点を除く全てが同一の腫瘍性病変であった。これらは類円形から紡錘形を示す上皮様の腫瘍細胞の増殖や浸潤として胸腔内臓器(心臓、肺、大動脈)の胸膜面あるいは縦隔および肺の実質内で、腹腔内では大網、腹膜、リンパ節(脾、腎)で観察された。腫瘍細胞は結節表面および臓器の漿膜面では主に円形又は立方形で両染色性を示す細胞質と円形核から成る細胞で構成されており上皮由来と考えられる形態を示したが、結節内部では腫瘍細胞は類円形～楕円形の異型な核を有す紡錘形細胞から構成される肉腫様形態を示した。また、時に上皮様の形態を示す細胞質内には淡好酸性物質が貯留していた。中皮腫は中用量群の2例だけにしか認められず、本病変は被験物質投与と関連しない偶発病変と判定された。腫瘍細胞の一部はアルシアンブルー染色陽性、Cytokeratin(AE1/AE3)陽性、Podoplanin陽性(結節表層の細胞)を示した。

【考察】本病変は結節の大部分が紡錘形細胞から構成される肉腫様の形態を示し、表層部分では上皮様の形態を示すことから、混合型の中皮腫と診断された。現在、他の上皮性または間葉系腫瘍との鑑別を検討中である。

P-46* がん原性試験におけるICRマウスのアミロイドーシス発生状況及びアミロイドーシスと表皮剥離の関連

○霜山 奈津美、山口 裕子、西原 香織、中澤 朋美、工藤 佳代子、田村 一利、星谷 達
(株)ボゾリサーチセンター 病理部

【背景・目的】ICRマウスでは、がん原性試験において表皮剥離を伴ったアミロイドーシスがしばしばみられ、被験物質投与の影響や死因などを考察する上で、主要な所見の一つとなっている。今回我々は、がん原性試験に供されたICRマウスのアミロイドーシスについてその発生状況を明らかにすると共に、表皮剥離との相関性についても調査したので報告する。

【材料・方法】調査対象は、2007年以降に終了した背景データ収集試験及びがん原性試験(計7試験)の対照群に供されたICR系SPFマウス(Crj:CD1(ICR)、日本チャールス・リバー)とし、91から104週間ステンレス製網ケージにて個別飼育された雌雄各580匹を用いて検討した。

【結果・まとめ】アミロイドーシス有(A)/無(A(-))群及び表皮剥離有(E)/無(E(-))群に分類した。Aの発生頻度(%、全動物中)は雄27、雌21で、A群内のAEの発生頻度(%、A群中)は雄69、雌43であった。臓器別アミロイドーシス発生頻度(%、AEまたはAE(-)群中)は、AEでは雌雄とも脾臓、肝臓、腎臓、甲状腺で85以上と高値を示したが、AE(-)は雄で腎臓84、脾臓74、肝臓61、甲状腺59、雌で腎臓66、脾臓56、肝臓及び甲状腺49であった。アミロイドーシスが原因の死亡/瀕死率(%、AEまたはAE(-)群中)(AE, AE(-))は雄(75, 52)、雌(57, 32)であった。アミロイドーシスと表皮剥離の発生頻度(%、全動物中)(AE, AE(-), A(-)E, A(-)E(-))は雄(19, 8, 12, 61)、雌(9, 12, 3, 76)であり、雄では両者に相関があることが示唆されたが、雌では全体における表皮剥離の発生頻度が12%と低いこともあり、両者の相関は明らかではなかった。以上より、ICRマウスを用いた長期飼育試験では、雄はアミロイドーシスと表皮剥離の発生に相関があり、表皮剥離の有無で臓器別アミロイドーシス発生頻度及びアミロイドーシスによる死亡率に差があることが示された。

P-47* マウスの肝腫瘍病変におけるCytokeratin8/18およびCytokeratin 19の発現解析○串田 昌彦^{1,2)}、Peat Tyler J.¹⁾、Klaunig James E.¹⁾¹⁾Department of Environmental Health, School of Public Health in Bloomington, Indiana University,²⁾住友化学(株) 生物環境科学研究所

【目的】以前我々は、肝発癌性に対しては抵抗性の系統であるC57BL系マウスに対し、離乳後にDiethylnitrosamine (DEN)を50mg/kgの用量で週1回、8週間腹腔内投与することにより、種々の前癌病変を誘発できる肝発がんモデルを確立したことを報告した。また、前癌病変の解析にCytokeratin (CK) 8/18、およびCK19が有用であることも報告した(第27回日本毒性病理学会、Toxicologic Pathology, 2011)。今回、腫瘍性病変におけるCK8/18およびCK19の発現の解析を目的として、確立した離乳後肝発がんモデルを用い、腫瘍性病変でのこれらのタンパクの発現解析を行った。また、CK8/18およびCK19の発現がマウスの系統差に依存しないことを証明するために、C3Hマウスにおける発現解析も合わせて行った。

【方法】28日齢のC57BL/6マウス、およびC3HにDENを50mg/kgの用量でそれぞれ週1回、8週間(C57BLマウス)または4週間(C3Hマウス)腹腔内投与し、投与後60(C57BL/6 mice)または31(C3H mice)週目にて肝臓を摘出し、前癌病変および腫瘍性病変について検討した。

【結果】CK8/18およびCK19は両系統マウスにおいて、肝細胞腺腫および肝細胞癌ともに発現していることがわかった。ほぼすべての肝細胞癌でCK8/18および19が発現していたが、CK19の発現の強度はさまざまであった。肝芽腫においてCK19が強く発現していることがわかった。

【結論】以前我々が確立した離乳後C57BL系マウスのDEN誘発肝発癌モデルは腫瘍性病変の解析にも有用であることがわかった。また、前癌病変のみならず、腫瘍性病変の解析にもCK8/18およびCK19が有用であり、マウスの系統に関わらず利用できることが示された。

P-48* PhenobarbitalとOrphenadrine併用投与によるラット肝発がんプロモーション作用の修飾に関する研究○盛田 怜子^{1,2)}、八舟 宏典^{1,2)}、赤根 弘敏¹⁾、板橋 恵^{1,2)}、白木 彩子^{1,2)}、鈴木 和彦³⁾、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CYP2Bを誘導する化学物質の中には、CYP2B誘導による活性酸素種(ROS)産生とそれに伴う酸化ストレスに起因するラット肝発がんプロモーション作用を持つものがある。本研究ではCYP2B誘導剤であるphenobarbital (PB)およびorphenadrine (ORPH)の併用投与を行い、ラット肝発がんプロモーション作用における修飾作用について検討した。

【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 (200mg/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PB (120 ppm, 60 ppm)の飲水投与ないしORPH (1500 ppm, 750 ppm)の混餌投与、もしくは60 ppm PBと750 ppm ORPHの併用投与を行った。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】併用投与群において各々単剤高用量群と同程度に相対肝重量が有意に増加した。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、Cyp2b1/2のmRNA発現、酸化ストレスの指標であるthiobarbituric acid-reactive substanceおよびマイクロソームROS産生、さらに抗酸化遺伝子であるGstm3、Gpx2のmRNA発現が併用投与群において各々単剤高用量群と同等に有意な増加が認められた。

【考察】CYP2B誘導剤同士の併用投与により、ラット肝発がんプロモーション作用が相加的に増強することが明らかとなり、その機序にはCYP2B誘導によるROS産生とそれに伴う酸化ストレスが関与していることが示唆された。

P-49* ラット肝癌細胞におけるAcetaminophen誘導アポトーシスに対する細胞間コミュニケーションの関与

○内木 綾、朝元 誠人、加藤 寛之、白井 智之、高橋 智

名古屋市立大学 大学院 医学研究科 実験病態病理学

細胞間結合装置の一つであるギャップ結合は、コネクシン (Cx) タンパクの6量体から構成され、低分子物質を交通させることで、隣接細胞間のコミュニケーションを維持するのに重要な役割を演じている。肝臓においてはCx32が主要なギャップ結合タンパクの一つである。非ステロイド性解熱鎮痛薬のAcetaminophen (APAP) は、世界中で広く汎用されているが、大量に服用することで薬剤性肝障害を引き起こすことが知られている。これまでに、肝臓特異的に機能するCx32のドミナントネガティブ変異体導入トランスジェニックラットを用いて、Cx32機能抑制による細胞間コミュニケーション機能の低下した状態では、APAP投与によって誘導される肝細胞のアポトーシスが抑制されることを示してきた。そこで本研究では肝細胞の増殖および細胞死に対するCx32の役割を解明するため、Cx32発現が低下しているラット肝癌細胞株 (C6) にGFPベクターを用いてCx32遺伝子を導入し、Cx32タンパク発現と細胞間コミュニケーションが回復した安定細胞株 (C6-Cx32) を作製した。C6-Cx32およびC6-Mock培養液中にAPAPを添加し、24時間後の細胞形態の変化、増殖活性およびアポトーシスの解析を行った。その結果、APAP投与により両者で浮遊細胞の出現と、Caspase 3の活性化を伴うアポトーシスが確認された。活性型Caspase 3のシグナルは、C6-Mockと比較しC6-Cx32においてより強く検出された。またC6-Cx32ではC6-Mockと比較し、有意な細胞増殖活性の低下とアポトーシス細胞の増加を認めた。以上より、Cx32は肝癌細胞においてAPAPによるアポトーシスシグナルの伝達を促進することが明らかとなり、Cx32を介する細胞間コミュニケーションは、正常肝組織および肝癌細胞株いずれにおいても、アポトーシスシグナル伝達を制御していることが示唆された。

P-50 ポリミキシンBの投与経路の違いによる腎毒性発現の差

○湯浅 敦子、丸山 裕子、梅屋 直久、日置 孝徳、佐藤 洋

富士フィルム(株) 安全性評価センター

【目的・方法】多剤耐性緑膿菌 (multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*; MDRP) に最も有効な抗菌薬としてポリミキシン類が古くから使用されているが、腎障害患者への使用で病態が悪化することが報告されている。我々は第28回日本毒性病理学会において、ラットの反復皮下投与でのみ腎毒性が惹起されることを報告した。今回、投与経路の違いによるポリミキシンBの腎毒性発現の差を明らかにする目的で、ラットに2.5 mg/kg静脈内投与あるいは20 mg/kg皮下投与して、経時的に尿及び血液を採取し、腎機能を観察すると共に血液薬物濃度を測定した。

【結果・結論】尿検査において皮下投与で尿量の増加と比重低値傾向がみられた。血液生化学検査では皮下投与の1、2日目にBUN、CREが一過性に上昇し、8日目から再度高値がみられた。病理組織学的検査では、14日目以降より、近位尿細管上皮の脱落・壊死、塩基性化がみられ、腎障害像が観察された。一方、静脈内投与ではいずれの検査でも変化はみられなかった。腎毒性の発現した皮下投与における血中濃度推移は、初回投与時 T_{max} 4時間、AUC 87000 mg/mL・h、14日間投与ではT_{max}1時間、AUC 110000 mg/mL・h、28日間では、T_{max} 2時間、AUC 210000 mg/mL・hで、投与期間の延長でT_{max}の短縮がみられた。更に、薬物投与後4時間の血液薬物濃度は9日目より増加した。腎毒性の認められなかった静脈内投与では、薬物濃度の変動はみられなかった。腎毒性が発現した皮下投与では、静脈内投与と比較してC_{max}は同等であったものの、AUCが10~20倍であり、腎毒性発現にはAUCが強く関与していると考えられた。また、腎障害マーカーであるBUN及びCREの有意な上昇は8日より観察され、血液薬物濃度の上昇時期と一致していた。

P-51* マウスにおけるコリスチンメタンスルホン酸による腎毒性の経時的変化の病理学的検討

○吾郷 恭平¹⁾、倉田 靖¹⁾、伊藤 富美¹⁾、川村 祐司¹⁾、野本 眞博²⁾、土屋 敏行¹⁾、平塚 一幸¹⁾、鈴木 幸吉³⁾

¹⁾Meiji Seikaファルマ株式会社 医薬研究所 安全性研究室、

²⁾Meiji Seikaファルマ株式会社 医薬研究所 薬物動態研究室、³⁾Meiji Seikaファルマ株式会社 医薬研究所

【目的】コリスチン(ポリミキシンE)は陽イオンのポリペプチド抗生物質でありそのプロドラッグであるコリスチンメタンスルホン酸(CMS)は臨床でも使用されているが、腎臓の近位尿細管に毒性を示すことが古くから知られている。しかし、その腎毒性の発生機序については十分な検討がなされておらず不明な点が多い。そこで、コリスチンによる腎毒性を検討するため、マウスにCMSを単回投与し、腎毒性の初期変化を病理学的に検討した。

【方法】マウスにCMSを800 mg/kg単回皮下投与し、投与後1、2、4、8、24及び48時間に剖検に処した。検査項目として、血液生化学検査(投与後48時間のみ)、腎中コリスチン濃度測定、病理組織学的検査を実施した。また、コリスチンによる腎毒性の初期変化とROS発現との関連を明かとするために、脂質過酸化マーカーの抗4-Hydroxynonenal(4-HNE)抗体を用い免疫組織学的検討を実施した。

【結果】コリスチンは投与後2時間に腎中濃度のピークに達し、その際近位尿細管上皮細胞の内腔側に微小空胞が出現した。投与後4時間からこれら微小空胞の増加と共に巨大化がみられ、投与後8時間からこれらの変化に伴い、核の変性、壊死等がみられた。また、投与後24時間以降はほとんどの近位尿細管上皮細胞が壊死に至り、投与後48時間ではBUN及びクレアチニンの明らかな増加も認められた。一方、4-HNEは、投与後2時間から微小空胞に陽性反応を示し、投与後4時間以降は一部の空胞、或いは細胞質全体が陽性反応を示した。

【考察】腎の障害は組織中コリスチン濃度上昇に伴い急激に進行し、近位尿細管上皮細胞の空胞化の進行、核の変性を経た後、壊死に至ることが明らかとなった。また、初期の空胞が4-HNE陽性であったことから、コリスチン腎毒性は初期からROSによる傷害が関与している可能性が示唆された。

P-52* オクラトキシンAが誘発する発がん標的臓器、腎臓の*in vivo*変異原性、アポトーシスならびにカリオメガリーに対するp53欠損の影響

○日比 大介¹⁾、木島 綾希¹⁾、鈴木 裕太¹⁾、金 美蘭¹⁾、石井 雄二¹⁾、小西 良子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 衛生微生物部

【背景・目的】これまで我々は、カビ毒オクラトキシンA(OTA)の投与により、発がん標的部位の腎臓においてレポーター遺伝子の突然変異(主に欠失変異)頻度が上昇すること、また、同部位での網羅的遺伝子発現解析からDNA二重鎖切断(DSB)修復酵素及びp53関連遺伝子のmRNA量が変動することを見出した。しかし、OTAの*in vivo*変異原性誘発機序の詳細については明らかではない。本研究では、がん抑制遺伝子p53を欠損したレポーター遺伝子導入動物であるp53欠損gpt deltaマウスを用い、OTA誘発*in vivo*変異原性及び病理組織学的変化に対するp53遺伝子欠損の影響について検討した。

【方法】10週齢の雄性のp53欠損ならびに野生型gpt deltaマウスに0、1、5 mg/kgのOTAを4週間強制経口投与し、腎臓のp53タンパク質発現、*in vivo*変異原性、尿細管上皮細胞のアポトーシス及びカリオメガリーの発現頻度を検索した。

【結果】p53欠損gpt deltaマウスにおいて遺伝子欠失変異を示すSpi⁺変異頻度の有意な上昇が認められた。一方、点突然変異を示唆するgpt遺伝子の変異頻度についてはp53の有無に関わらず変化は認められなかった。gpt遺伝子の変異スペクトラムについてもOTA特異的な変異パターンは認められなかった。野生型gpt deltaマウスではOTA投与によりp53タンパク質の顕著な発現上昇が認められた。p53欠損gpt deltaマウスではOTAの標的部位である腎臓髄質外帯外層部の近位尿細管上皮細胞のアポトーシス及びカリオメガリーの発現頻度が野生型gpt deltaマウスに比して有意に増加した。

【考察】p53はDSBにおける相同組み換え修復を制御することが知られていることから、OTAにより誘発される欠失変異はDSBの相同組み換え修復過程で引き起こされている可能性が考えられた。また、p53はOTAが誘発するアポトーシス及びカリオメガリー対して抑制的に作用することが明らかとなり、これらの病理組織学的変化がOTAによるDNA損傷を引き金に生じる可能性が示唆された。

P-53* gpt deltaラットを用いたオクラトキシンAの欠失変異誘発メカニズムの解明

○黒田 顕¹⁾、渡辺 麻衣子²⁾、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⁾、能美 健彦³⁾、小川 久美子¹⁾、小西 良子³⁾、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 衛生微生物部、

³⁾国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター

我々はこれまでに、発がん用量のオクラトキシンA (OTA) をgpt deltaラットに4週間混餌投与した結果、発がん標的部位である腎臓髓質外帯において欠失変異を示唆するSpi⁻変異頻度が増加することを明らかにした。欠失変異はDNA損傷が修復される過程で生じると考えられており、DNA損傷の種類によって異なるパターンの欠失変異が起こることが示唆されている。そこで本研究では、OTA誘発欠失変異の発生メカニズムの解明を目的として、実験1では、発がん用量のOTAをgpt deltaラットに投与して得られたSpi⁻変異体について、欠失変異スペクトラム解析を実施した。実験2では、同ラットに種々の濃度のOTAを投与後、コメットアッセイとレポーター遺伝子変異解析を同一個体で実施して、DNA損傷と欠失変異誘発との関連性を解析した。

【方法】 実験1：OTAを雄6週齢のgpt deltaラット (n=5) に0、5 ppmで4週間混餌投与し、腎臓 (髓質外帯) のSpi⁻アッセイを実施し、得られた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。実験2：OTAを雄6週齢のgpt deltaラット (n=10) に0、70、210、630μg/kgで4週間強制経口投与し、最終投与から3時間後の腎臓 (髓質外帯) を用いてコメットアッセイ (n=5)、Spi⁻アッセイ (n=10) を実施した。

【結果】 実験1：対照群と比較し、OTA投与群でSpi⁻変異体頻度が有意に増加した。欠失変異スペクトラム解析の結果、OTA投与により1 kb以上のlarge deletionの変異頻度は約4倍、1塩基欠失の変異頻度は約2倍増加した。実験2：コメットアッセイの結果、70μg/kg以上で%Tail DNAが有意に増加した。

【考察】 OTAはlarge deletionおよび1塩基欠失の双方を誘発すると考えられた。また、コメットアッセイの結果から、OTA投与によるDNA損傷が確認された。今後は実験2の試料を用いてSpi⁻アッセイおよび欠失変異スペクトラム解析、さらにDNA損傷・修復関連分子の変動をmRNAあるいはタンパク質レベルで確認し、OTAの欠失変異発生メカニズムについて考察する。

P-54* 2型糖尿病モデルマウスの膀胱に認められた硝子滴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】 db/dbマウスは2型糖尿病のモデルとして用いられており、泌尿器系のうち、腎臓に関しては詳細な検索がなされているものの、膀胱に関する報告はほとんどない。今回、雄のdb/dbマウスの膀胱の移行上皮細胞内に認められた硝子滴について詳細に検索したので、その特徴および発現状況に関連病変と併せて報告する。

【材料と方法】 BKS.Cg+ Lepr^{db/+} Lepr^{db/Jcl} (db/db) マウス雄9例 (21週齢) の膀胱の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、PAM、PAS、アザンおよびPTAH染色を実施し、病理組織学的検索を行った。また、抗Lysosomal membrane protein-1 (LAMP-1) 抗体を用いた免疫組織化学的染色、透過型電子顕微鏡を用いた超微形学態の検索も実施した。

【結果】 アンブレラ細胞の腫大ないし空胞化が全例で認められ、剥離、脱落を伴う例もあった。また、4例で移行上皮の細胞質内に大小不同の硝子滴が認められ、そのうち3例で移行上皮の過形成、粘膜固有層および筋層間へのリンパ球、形質細胞の浸潤が認められた。硝子滴は、PAM染色で黒色、PAS染色で陰性、アザン染色で赤色、PTAH染色で黄褐色を呈した。LAMP-1では、硝子滴辺縁部にリング状に陽性反応が認められた。超微形態学的には、一重の限界膜で囲まれた高電子密度の均質無構造体として認められた。

【考察】 アンブレラ細胞の腫大ないし空胞化は全例で認められたが、硝子滴がみられた例のみで移行上皮の過形成、リンパ球や形質細胞の浸潤といった炎症反応がみられたことから、硝子滴はアンブレラ細胞の傷害の増強に伴って発生すると考えられた。また、上記の結果より、硝子滴はライソゾーム内に何らかの物質が蓄積したものである可能性が示唆された。今後、蓄積した物質の由来等について更なる検討を行う予定である。

P-55* ラット膀胱発がん物質DMA(V)のin vivo変異原性の検討

○藤岡 正喜、魏 民、山野 莊太郎、岡部 恭子、福永 賢輝、謝 曉利、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

【目的】*gpt delta*ラットは代謝能および組織特異性を反映した化学物質の安全性評価が可能であるため、化学物質の発がん性・変異原性の評価において広く用いられている。これまで微小組織を用いた*in vivo*変異原性の評価が非常に困難であった。そこで我々は微小組織においても十分なgenomic DNAを得られる抽出法を新たに開発した。本抽出法の有用性を示すため、被検物質として、ラット膀胱発がん物質である有機ヒ素のdimethyl arsenic acid (DMA^V)を用いて、膀胱粘膜における変異原性の評価を行った。

【方法】動物は雄性*gpt delta* F344ラット46匹を用いた。実験開始時より無処置群、92 ppm DMA^V (50 ppm As) 飲水投与群、陽性対照群として既知の膀胱発がん物質である0.05% BBN飲水投与群、陰性対照群として非膀胱発がん物質である5.0% アスコルビン酸ナトリウム混餌投与群の4群に分けて13週まで飼育し、剖検を行った。剖検後、膀胱粘膜からのgenomic DNAの抽出には、我々が新たに開発した方法を用いて試験に供した。点突然変異を評価する*gpt assay*および欠失変異を評価するSpi⁻ assayをそれぞれ行い、変異原性の有無の評価を行った。

【結果】*gpt assay*およびSpi⁻ assayの結果、無処置群と比較してBBN投与群で有意な変異体頻度の増加が認められたものの、アスコルビン酸ナトリウム投与群では変異体頻度の有意な変化は認められなかった。DMA^V投与群については現在評価中である。また、本試験において十分な量の形質転換フェージを得ることが確認できた。したがって、本抽出法が微小組織における遺伝毒性の評価に有用であることが確認できた。

P-56 2-エトキシ-2-メチルプロパンのラット膀胱発がんプロモーション作用の有無について

○今井 則夫¹⁾、萩原 昭裕¹⁾、土井 悠子¹⁾、勝呂 繭子¹⁾、玉野 静光¹⁾、長野 嘉介²⁾、福島 昭治³⁾
¹⁾(株)DIMS医科学研究所、²⁾長野病理コンサルティング、³⁾中災防・日本バイオアッセイ研究センター

【目的】地球温暖化対策として2-エトキシ-2-メチルプロパン(エチルターシャリーブチルエーテル、ETBE)の本格的なガソリンへの添加にあたり、ETBEの安全性評価の一環として実施した中期多臓器発がん性試験において、膀胱に乳頭腫症の発生頻度の有意な増加が認められた。今回、中期膀胱発がん性試験法を実施し、発がんプロモーション作用の有無について検討した。

【方法】6週齢のF344系雄ラットにN-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN)を500 ppmの用量で4週間飲料水投与した。その1週間後よりETBEを0(対照群)、100、300、500または1000 mg/kg/dayの用量で31週間強制経口投与した。実験36週間経過後に全生存動物を屠殺剖検し、膀胱を病理組織学的に検索した。

【結果】膀胱の病理組織学的所見では、乳頭状及び結節性(PN)過形成、乳頭腫、癌及び乳頭腫+癌の発生頻度は、ETBE全投与群において統計学的に有意差は認められなかった。また、これらの過形成性及び腫瘍性病変の基底膜10 cm当たりの平均発生数においてもETBE全投与群で有意差はみられなかった。なお、1000 mg/kg/day ETBE群のみ30例中4例(13%)に乳頭腫症の発生が観察された。

【考察】F344系雄ラットを用いた中期膀胱発がん性試験法(BBN法)による膀胱に対するETBEの発がんプロモーション作用は、無いことが明らかになった。しかし、ETBEは、1000 mg/kg/dayの用量で乳頭腫症を誘発することが再確認された。本研究は、一般財団法人 石油エネルギー技術センターが石油連盟から委託された「ETBEの発がん性に係る調査」事業の一環として実施されたものである。

P-57 DMBA誘発ラット乳腺発がんに対する若齢期高脂肪食の影響

○今井 俊夫、打屋 尚章、高橋 真美

国立がん研究センター 研究所 動物実験支援施設

動物発がんモデルにおける食餌要因の腫瘍発生に及ぼす影響については種々報告があるが、その詳細な機序については不明な点が多い。今回、DMBA誘発ラット乳腺発がんモデルの若齢期に高脂肪食を与えた際の発がんに及ぼす影響を検索し、若干の機序解析を試みたので報告する。

【方法及び結果】 F344雌ラットに基礎食 (CE-2、日本クレア製)、10%コーン油添加食及び牛脂添加食 (Quick Fat [QF]、同上) を5~6週齢時に与えた予備実験の結果、基礎食群に比し、両高脂肪食群では血清レプチン値の上昇あるいは上昇傾向とアディポネクチン値の低下が共通してみられた。発がん実験では、1) 基礎食 2) コーン油食 3) QFを5~9週齢時に与え、7週齢時にはDMBAを単回投与した。実験期間を通じた触診において、乳がんの発生頻度及び発生数が両高脂肪食群で増加あるいは増加傾向を示し、更にQF群ではDMBA投与4週後に乳がんが初発し、基礎食群及びコーン油群の8週に比し早期化する傾向がみられた。DMBA投与26週後の最終剖検による皮下の詳細観察では、基礎食群に比しコーン油群及びQF群で乳がんの発生頻度、数及び体積が増加あるいは増加傾向を示した。病理組織学的に、基礎食群に発生した腺がんは何れも低異型、高分化型であったが、両高脂肪食群では各々8及び27%の割合で高異型、中・低分化型腺がんが含まれていた。中・低分化型腺がんでは、高分化型腺がんに比しエストロジェン受容体 α の発現が低く、細胞周期関連タンパク質の発現が高値を示した。

【まとめ】 ラット乳腺化学発がんモデルの幼若期に高脂肪食を与えることで発がんが促進され、発生した腺がんの形質にも影響した。中・低分化型腺がんが発現上昇した細胞周期関連タンパク質は、レプチン受容体の主なシグナル伝達経路であるSTAT3の活性化と関連するとの報告もあり、レプチンによる腺がんの分化、異型度への関与が示唆された。現在、本実験で得られた乳がんの培養細胞系を確立し、レプチンと乳がんの形質との関連性を検索している。

P-58 グリシドール脂肪酸エステルによるラット乳腺腫瘍発生修飾作用の検討

○Cho Young-Man¹⁾、水田 保子¹⁾、豊田 武士¹⁾、大波 冴子¹⁾、赤木 純一¹⁾、鈴木 勇¹⁾、西川 秋佳²⁾、小川 久美子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

Glycidol fatty acid esters (GEs), trace contaminants in edible oils which are possibly formed during refining processes, have recently been detected in vegetable fat-containing products, including infant formulas. Although there is no toxicological data available yet on the GEs, the primary toxicological concern is based on the potential release of genotoxic carcinogen, glycidol from the parent esters. In the present study, to detect the modifying effects of GEs on the mammary gland, one of the carcinogenic target organs of glycidol, we pretreated 7-week-old SD rats with *N*-methyl-*N*-nitrosourea (50 mg/kg i.p.) and then administered glycidol (800 ppm) or GEs (3600 ppm, glycidol oleate (GO) or glycidol linoleate (GL)) in the drinking water for 26 weeks. In body weights, significant decrease was noted in the glycidol group compared to control group from week 2 through experimental period due to obvious decrease of water consumption. The calculated glycidol intake was 43 mg/kg per day and on the assumption that all treated GEs would be completely metabolized to glycidol, intake of glycidol in GO and GL groups was 93 and 74 mg/kg per day, respectively. The multiplicity and volume of histopathologically diagnosed mammary tumors, in particular poorly differentiated mammary carcinomas were significantly increased in the glycidol group as compared with the control. In the GO group, the multiplicity and volume of mammary tumors showed a slight tendency to increase, but no change was noted in the GL group. These results provide evidence of a mammary tumor promoting activity of glycidol, but not GEs in the present model.

P-59 雌性F344ラットにおけるDHPNおよびDMBAの複合投与による乳腺腫瘍発生の影響

○岸 宗佑¹⁾、横平 政直¹⁾、中野 裕子¹⁾、山川 けいこ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⁾回生病院

ラットにおいてDHPNの飲水投与により高頻度に肺発癌を来し、またDMBAの強制胃内投与により乳癌を誘発する。我々は、NNK誘発マウス肺腫瘍において、女性ホルモンレセプターの発現とEGFRの発現および腫瘍の増大について関連があることを報告した。今回、肺発癌と乳腺発癌との関連を検索する目的でDHPNとDMBAの複合投与による影響について検討を行った。6週齢の雌性F344ラットを用い、(1) コントロール群：コーンオイル (1ml/rat) を実験開始1週間後 (7週齢) に単回胃内投与した群、(2) DHPN群：実験開始から2週間0.1% DHPNを飲水投与した群、(3) DMBA群：DMBA (40mg/kg体重) を実験開始1週間後 (7週齢) に単回胃内投与した群、(4) DHPN+DMBA群：実験開始から2週間0.1% DHPNを飲水投与し、実験開始1週間後 (7週齢) でDMBAを単回胃内投与した群の4群にて検討を行った。29週目 (35週齢) に屠殺を行い、肺と肝の臓器重量を測定し、乳腺、肺、肝など主要臓器について病理組織学的に検討した。その結果、乳腺腫瘍の発生頻度は各群それぞれ、(1) 0/10(0%)、(2) 0/21 (0%)、(3) 5/21 (23.8%)、(4) 2/21 (9.5%) であり、いずれも病理組織学的にはadenocarcinomaであった。各群の体重および、肝と肺の絶対重量、相対重量いずれにおいても統計学的に有意な差は認められなかった。DMBA群において、乳癌の発生が見られた5匹は、乳癌の発生がなかった16匹に比べて体重に差はないものの、肝と肺の絶対重量、相対重量はいずれも有意に高かった。同様にDHPN+DMBA群においても、乳癌の発生が見られた2匹は、乳癌の発生がなかった19匹に比べて体重に差はないものの、肝と肺の絶対重量、相対重量はいずれも有意に高かった。以上より、乳腺腫瘍の発生頻度はDMBA群よりもDHPN+DMBAの複合投与群で低い傾向が見られた。また、乳癌が発生した個体は、乳癌が発生しなかった個体に比べ、肝および肺の重量が高い傾向があることが示された。現在、肺における組織学的な検討を検討しており、合わせて報告する。

P-60* 高圧酸素環境下におけるマウス皮膚化学発がんへの影響

○堂口 裕士¹⁾、高松 玲佳¹⁾、片山 亮介²⁾、齊尾 征直¹⁾、吉見 直己¹⁾
¹⁾琉球大学大学院 医学研究科 腫瘍病理学講座、²⁾(株)武蔵野免疫研究所

【目的】高圧酸素の肺胞上皮細胞への影響は周知であるものの、高圧酸素併用での放射線・化学療法の効果増強が認められている。高圧酸素下での腫瘍発生への検討は乏しい。今回、我々は7,12-ジメチルベンズ[α]アントラセン (DMBA) および12-O-テトラデカノールホルポール13-アセテート (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下での、腫瘍に対する修飾効果を検討した。

【対象および方法】実験群として、6週齢のマウス (CD-1) 50匹に、25 nmol DMBAをマウスの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。高圧酸素処理 (HBOT) は週5日、高圧酸素カプセル内に、2.2気圧で60分処置を行った。対照群としてDMBA/TPAのみ、DMBA投与単独群、HBOT単独群、無処置群を設定した。全群は実験開始から23週間後に解剖し、腫瘍発生状況、腫瘍容積および組織学的検討を行った。

【結果】DMBA/TPA処理群のうち、HBOT群と非HBOT群との間では、HBOT群が実験開始から8週間後に、また非HBOT群が9週間後に腫瘍形成が認められ、HBOT群において早期に腫瘍形成が認められた。腫瘍の発生率では、12週間後にHBOT群が38%、非HBOT群が20%と、HBOT群の発生率がほぼ倍になった。

実験開始から23週間後の屠殺時ではそれぞれHBOT群67%、非HBOT群53%であった。MultiplicityはHBOT群 3.9 ± 2.6 、非HBOT群は 4.0 ± 2.8 であり、一匹当たりの数に大きな差は認められなかった。発生した腫瘍の容積はHBOT群が平均 20.61 mm^3 で、非HBOT群は 13.35 mm^3 と、HBOT群がやや大きかった。なお、HBOT単独群での皮膚への影響は特に認められなかった。

【考察】HBOTによりTPAによる腫瘍形成促進を増強する効果があることを示していると思われる。このことは、高圧酸素環境下での創傷治癒に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。

P-61* ラット二段階発がんモデルを用いた発がんプロモーション過程早期における細胞増殖、アポトーシス及び細胞周期関連分子の局在変化

○谷合 枝里子^{1,2)}、八舟 宏典^{1,2)}、盛田 怜子^{1,2)}、板橋 恵^{1,2)}、鈴木 和彦³⁾、三森 国敏⁴⁾、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、⁴⁾内閣府 食品安全委員会

【背景及び目的】 これまでに我々は、腎臓、肝臓、甲状腺、膀胱、前胃ないし腺胃を標的とする発がん物質のラット28日間投与例での発がん性予測指標の探索より、標的臓器に関わらず、細胞増殖活性亢進を反映するKi-67およびminichromosome maintenance 3 (Mcm3) 陽性細胞が増加した発がん物質では、G₂/M移行期及び増殖に関与するtopoisomerase (Topo) II α 、M期のスピンドルチェックポイント破綻に関与するubiquitin D (Ubd) 陽性細胞およびTUNEL陽性アポトーシスが増加することを見出した。今回、これらの指標候補が発がん過程に関与するかどうかを明らかにするため、発がんプロモーション過程早期に形成される前がん病変及び過形成病変に対する局在性を探索した。

【方法】 ラット二段階発がんモデルを用いて、プロモーターとして肝臓ではpiperonyl butoxide及びmethapyrilene、甲状腺ではsulfadimethoxine、膀胱ではphenylethyl isothiocyanate、そして前胃及び腺胃ではcatecholを選択し、それぞれ標的臓器のイニシエーション処置後に、プロモーション用量の混餌ないし飲水投与を行った。

【結果】 Ki-67、Mcm3、Topo II α そしてアポトーシスは、プロモーションの結果、前がん病変と考えられている肝臓のglutathione S-transferase placental form陽性肝細胞巢ないし甲状腺のphospho-p44/42 mitogen-activated protein kinase陽性細胞巢(限局性濾胞上皮過形成)内では陽性細胞が増加した。また、プロモーションにより膀胱、前胃及び腺胃で形成された過形成病変内でも同様の反応性を示した。一方、Ubd陽性細胞は前がん病変内では増加せず過形成病変内でのみ増加した。

【考察】 発がんプロモーション過程早期において、指標候補のうちUbdにのみ反応性を示さなかった肝臓や甲状腺の前がん病変では、この過程にもはやM期破綻は関与しておらず、Ubdを含む指標候補全てに反応性を示した過形成病変では、28日間投与例と同様の反応性であることから、前がん病変としての細胞の特性をまだ有していないと考えられた。

P-62* ラットを用いた異なる発癌標的臓器における発がん促進時早期での細胞周期関連分子の発現特性

○八舟 宏典^{1,2)}、谷合 枝里子^{1,2)}、盛田 怜子^{1,2)}、赤根 弘敏¹⁾、王 リユン¹⁾、鈴木 和彦¹⁾、三森 国敏³⁾、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⁾食品安全委員会

【目的】 肝発がん物質の実験動物への反復投与により、肝細胞に細胞周期異常を反映した巨大核の出現する場合があります。近年、その出現のメカニズムに染色体の不安定性の増加や更に発がんに至る道筋が想定されている。我々はこれまでに、ラット28日間反復投与例での発がん標的性の異なる発がん物質に反応する発がん早期指標探索により、高い増殖活性を示した発がん物質において巨大核誘発性の有無に関わらず、G₁/S期のチェックポイントで機能するp21^{Cip1}、G₂/M期に機能しM期の進行に関わるCdc2、M期関連分子の陽性細胞の増加を見出した。今回、これらの指標分子について発がん促進過程早期における反応性を検討した。

【方法】 雄性F344ラットに、肝臓では発がん促進時期にpiperonyl butoxide (20,000 ppm) ないしmethapyrilene (1,000 ppm) を6週間混餌投与し、投与開始1週間後に2/3肝部分切除を行った。甲状腺では発がん促進時期にsulfadimethoxine (1,500 ppm) を4週間飲水投与した。投与終了時に剖検を行い、免疫組織学的解析を実施した。

【結果】 細胞増殖指標のKi-67、p21^{Cip1}、Cdc2、M期分子のAurora B、p-Histone H3及びHP1 α は肝発がん前がん病変指標のglutathione S-transferase placental form陽性細胞巢内で巢外に比して陽性細胞が有意に増加した。甲状腺においては、Ki-67、Cdc2、Aurora B、p-Histone H3及びHP1 α はphospho-Erk1/2陽性細胞巢内で巢外に比して陽性細胞が有意に増加した。一方、p21^{Cip1}はphospho-Erk1/2陽性細胞巢内で巢外に比して陽性細胞が有意に減少した。

【考察】 肝臓と甲状腺ともに前がん病変内で高い細胞増殖活性と共に、M期異常を反映する分子発現変化を示し、M期に停滞し、染色体不安定性を示す細胞の増加が推察された。一方、肝臓と甲状腺の前がん病変内外におけるp21^{Cip1}の発現の違いは、前がん細胞のG₁/Sチェックポイント機能の破綻の有無を反映し、肝臓では機能が保たれてG₁/S期停止が促進するのに対して、甲状腺では破綻して発がんを促進する可能性が示唆された。

P-64* Wntシグナルによる胃上皮細胞および胃癌細胞の分化・増殖制御に関する研究

○平田 暁大¹⁾、山田 泰広²⁾、富田 弘之³⁾、久野 壽也³⁾、村井 厚子⁴⁾、塚本 徹哉⁵⁾、山本 昌美⁶⁾、原 明³⁾

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⁾京都大学 iPS細胞研究所、

³⁾岐阜大学大学院 医学研究科 腫瘍病理学分野、⁴⁾岐阜大学大学院 連合獣医学研究科、

⁵⁾藤田保健衛生大学 医学部 病理診断科、⁶⁾日本獣医生命科学科 獣医学部 獣医保健看護学科 病体病理分野

【はじめに】胃癌組織において、Wnt/ β -cateninシグナルが高頻度に活性化していることが報告されているが、その活性化が胃癌の発生・進展にどのように寄与しているかについては未だ不明な部分が多い。我々は、昨年度の本学会にて、マウスの胃上皮細胞において、 β -cateninを強制的に発現させることによりWntシグナルを活性化すると、細胞増殖が有意に亢進することを報告した。細胞の増殖は分化と密接に関わっていることから、今回、Wntシグナル活性化が、胃上皮細胞および胃癌細胞の分化・増殖に及ぼす影響について解析した。

【方法】ドキシサイクリンの投与により (Tet-on system) 安定型 β -cateninの発現を誘導可能な β -catenin inducibleマウスを用いた。5から7週齢のマウスにDoxを5日間飲水投与し、摘出した腺胃を組織学的解析および定量PCRによる遺伝子発現解析に用いた。さらに、N-methyl-N-nitrosourea (MNU) によりマウスの腺胃に誘発した腫瘍を組織学的解析に用いた。

【結果】ドキシサイクリンを投与したマウスの胃底腺および幽門腺において β -cateninの蓄積が認められ、峽部から胃小窩にかけてKi-67陽性の小型細胞が著明に増殖した。Alcian-blue-periodic acid-Schiff (AB-PAS) 染色およびMuc5ac免疫染色により、胃小窩における粘液産生の著明な減少が認められ、 β -cateninの発現により表層粘液細胞への分化が抑制されることが明らかとなった。さらに、定量PCRにより、分化マーカーの発現減少および胃上皮幹細胞マーカー (Lgr5 およびSox2) の発現亢進を認めた。また、MNU誘発腺胃腫瘍において β -cateninは限局して発現し、同部位においてPAS陽性の粘液産生の減少およびKi-67陽性細胞の増加を認めた。

【考察】マウス胃上皮細胞および胃癌細胞において、Wntシグナル活性化により分化が抑制され、増殖能が維持されることが示唆された。現在、ヒトの胃癌にも外挿できるか検討を進めている。

P-65 可溶性VEGFR-3デコイとSATB1 siRNAのマウス乳癌に対する転移抑制作用の検討：可溶性VEGFR-3デコイは乳癌転移を抑制した

○柴田 雅朗¹⁾、森本 純司²⁾、柴田 映子³⁾、藤岡 重和¹⁾、斯波 真理子³⁾

¹⁾大阪保健医療大学 保健医療学部 解剖学・病理組織学研究G、²⁾大阪医科大学 実験動物センター、

³⁾国立循環器病研究センター研究所 病態代謝部

【目的】最近、リンパ管内皮に特異的に発現するVEGFR-3とそのリガンドであるVEGF-C (腫瘍細胞が産生) により腫瘍内のリンパ管新生が誘導され、また乳癌のリンパ節転移に対して促進的に作用することが報告された。また、2008年になって、SATB1は乳癌の増殖と転移を促進するゲノムオーガナイザーである可能性が報告された。そこで、SATB1に対するsiRNA (psiSATB1: SATB1のノックダウン) あるいは可溶性VEGFR-3 (psVEGFR-3: VEGF-CのVEGFR-3への結合阻害) が、高率にリンパ節転移を起こすマウス乳癌モデルに対して、転移抑制をもたらすか否かを検討した。

【方法】マウス移植乳癌に対して、週1回の割合で腫瘍内にpsiSATB1、psVEGFR-3あるいは対照ベクター (pVec) を注入し、直ちにgene electrotransferを行い、6週経過後に全生存動物を屠殺剖検した。

【結果】経時的な腫瘍体積はpsVEGFR-3群で有意な抑制が観察された。病理組織学的解析では、リンパ節転移および直径1mm以上の肺転移巣の個数は、psVEGFR-3群で有意な抑制が示された。

【結論】VEGF-Cと結合してその機能を喪失させるsVEGFR-3デコイは、有意な転移抑制作用をもたらした。一方、乳癌の増殖と転移に関わると報告された新規のSATB1遺伝子に対するsiRNA発現ベクターには抗腫瘍効果は発揮されなかった。

P-66 アリルイソチオシアネート(AITC)暴露によるヒト乳癌細胞(MCF-7)におけるオートファジを伴った細胞死の誘導

○朝元 誠人、内木 綾、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

【目的】近年、わさびの主成分であるアリルイソチオシアネート(AITC)のがん抑制作用が報告されたいるが、そのメカニズムは明らかではない。がん抑制作用のメカニズムは明らかではない。がん抑制作用のメカニズムには細胞周期の抑制、アポトーシスの誘導などが原因とされている。今回、ヒト乳癌細胞MCF-7を用いてAITC暴露による細胞増殖抑制作用、細胞死誘導作用発現時におけるメカニズムとしてオートファジーの関与を念頭に解析した。

【対象と方法】AITC暴露による細胞形態の変化を顕微鏡下で観察しオートファジーに特徴的は細胞変化を検索し、増殖細胞数、死細胞数を計測をフローサイトメーター(Guava)を用いて解析した。また、オートファジー関連タンパク質の発現変化をウエスタン法にて解析した。さらに、オートファジー阻害剤であるクロロキンの投与による効果についても検討した。

【結果】その結果、AITC暴露は乳癌細胞に対してG2/M期の細胞周期抑制作用、オートファジーシグナルの増加を伴う細胞死を誘導し、オートファジー阻害剤の投与によってさらに細胞死が促進された。以上より乳癌細胞はAITC暴露による細胞死に対して抵抗するため、または生き残るためオートファジが誘導されたと考えられた。そこで、生き残った細胞を15日間通常の培地で培養したところウエスタン解析が可能なタンパク量が確保でき、検索するとオートファジーマーカーの発現とともに幹細胞マーカーの発現が認められた。以上より、AITCは乳癌細胞の増殖抑制と細胞死誘導に効果があり、癌幹細胞が残ってしまう事が明らかになった。

【結論と考察】従って、癌幹細胞に対する化学予防法、化学療法に効果のある化学物質の投与方の研究が必須であると考えられた。

P-67* ヒト肺がん由来細胞株移植マウスの腫瘍組織における上皮-間葉転換

○山川 佳香¹⁾、能登 貴久¹⁾、小野 美穂子¹⁾、坪田 健次郎¹⁾、森 政道²⁾、上野 陽子²⁾、仲辻 俊二¹⁾、松本 正博¹⁾

¹⁾アステラス製薬(株) 研究本部 安全性研究所 毒性病理研究室、

²⁾アステラス製薬(株) 研究本部 薬理研究所 癌研究室

【背景・目的】上皮-間葉転換(epithelial-mesenchymal transition, EMT)は上皮系細胞が間葉系細胞に形質転換する現象であり、がん細胞がEMTを起こすと運動性や浸潤能が亢進することから、EMTはがんの転移に深く関与すると考えられている。今回、マウスに移植したヒト由来の肺がん細胞を用いて、病理組織学および免疫組織化学的に上皮系/間葉系マーカーの発現様式について検索した。

【材料・方法】雄性NOD-SCIDマウスの皮下にヒト非小細胞肺がん由来細胞株(NCI-H2228細胞)を移植し、その後、腫瘍組織および周辺組織を採取した。採取した組織は、10%中性緩衝ホルマリンで固定後、パラフィン切片を作製し、HE染色に加えてKi-67, Vimentin, E-cadherinの免疫組織化学的染色を行った。

【結果・考察】NCI-H2228細胞を皮下に移植した腫瘍塊は、腺様に増殖する領域と充実性に増殖する領域が認められた。両者を比較すると、充実性に増殖した腫瘍細胞でKi-67およびVimentinの陽性率がより高かった。一方で、E-cadherinの発現は、充実性に増殖した腫瘍細胞で著しく低下していた。上皮系の腫瘍組織において、充実性増殖した腫瘍細胞は、間葉系マーカーであるVimentinの発現の増強および上皮系マーカーであるE-cadherinの発現の低下が認められたことより、組織形態と上皮系/間葉系マーカー発現パターンに関連があることが明らかになった。この結果は、上皮系腫瘍の増殖におけるEMTの役割を考える上で、興味深い知見であると考えられた。

P-68* 粒子径の異なるナノ白金のラット経皮投与による皮膚病変の違い

○熊谷 文明¹⁾、白見 憲司¹⁾、丸茂 秀樹¹⁾、今野 和則¹⁾、吉岡 靖雄²⁾、堤 康央²⁾、斉藤 義明¹⁾、
桑形 麻樹子¹⁾

¹⁾(財)食品薬品安全センター 秦野研究所 毒性部、²⁾大阪大学大学院 薬学研究科 毒性学分野

【目的】 これまでに、粒子径の異なるナノ白金 (1または20 nm) をラットに28日間反復経皮投与し生体への影響を調べた。その結果、投与第2週から両群ともに皮膚にびらんを伴う痂皮形成がみられた。28日反復投与後の所見の程度は1 nmナノ白金投与群において強かった。本実験では、粒子径の異なるナノ白金の皮膚への初期影響を比較検討するために、2種のナノ白金を反復投与し、投与初期における皮膚の形態学的変化を顕微鏡および電顕的に調べた。

【方法】 1または20 nmのナノ白金 (5000 ppm) をラットの背部皮膚に反復経皮投与 (1日6時間貼布、週5日間) し、1 nmナノ白金投与群を投与5、7、9日目に、20 nmナノ白金投与群を投与7、14日目にそれぞれ解剖して、皮膚の病理組織学検査(顕微鏡および電顕)を実施した。

【結果】 投与部皮膚の痂皮形成は、1 nmナノ白金投与群では投与5日から、20 nmナノ白金投与群では投与6日から観察された。病理組織学検査において、1 nmナノ白金投与群の投与7、9日解剖例では真皮に好酸球浸潤がみられ、表皮基底層に浮腫が観察された。超微形態的には、浮腫部と一致する部位に基底膜に接する細胞間隙がみられ、間隙内に不定形構造物および高電子密度の粒子状物質が認められた。20 nmナノ白金投与群の投与14日解剖例では、表皮に空胞変性が観察された。超微形態的には、表皮細胞およびランゲルハンス細胞の細胞質に膜状構造物を含む大小不同の空胞がみられた。その他、両群ともにびらん、潰瘍および真皮への炎症細胞浸潤が観察され、その程度は1 nmナノ白金投与群において強かった。

【結論】 以上の結果から、ナノ白金の経皮投与による皮膚の形態学的変化は粒子径により異なることが明らかになり、粒子径により皮膚病変の発現機序が異なる可能性が考えられた。

P-69* モンモリロナイトを主成分とするナノクレイのラットに対する13週間混餌投与の影響

○鈴木 勇¹⁾、大波 冴子¹⁾、Cho Young-Man¹⁾、豊田 武士¹⁾、赤木 純一¹⁾、水田 保子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

【はじめに】 今日、ナノ材料には様々な材質が考案されており、その工業的利用の振興が期待されている。モンモリロナイトを主成分とするナノクレイは、加工食品の固化防止や内容物の保存安定性の向上を目的として、PETボトルなどの包装容器への使用が検討されているが、安全性に関する検討は十分とは言えない。そこで本研究では、ラットを用いたナノクレイの13週間混餌投与による毒性の有無を検討した。

【材料と方法】 食品添加物規格基準と適合した、粒子サイズの異なる2種類のモンモリロナイト (ベンゲルフレークおよびベンゲルクリア) について、0.04、0.2、1、5%の用量で粉末飼料 (CRF-1) と混合、ペレット状にし、6週齢の雌雄F344ラットに13週間混餌投与を行った。経過中、一般状態観察、体重および摂餌量を測定し、投与期間終了時に採血した後、病理検査に供した。

【結果とまとめ】 一般状態、体重、摂餌量および臓器重量にはベンゲルフレークおよびベンゲルクリア投与に関連した変化は認められなかった。血液学的検査では、雄の1%以上のベンゲルフレーク群でMCH、MCHCおよびPLTの増加と、雄の5%ベンゲルクリア群と5%ベンゲルフレーク群でWBCの有意な増加が認められたが、いずれも用量相関はなく、偶発的な変化と考えられた。血液生化学検査では、雄の5%ベンゲルクリア群でTGの有意な減少が認められたが、毒性学的意義の乏しい変化と考えられた。病理組織学的検査では背景病変以外に明らかな変化は認められなかった。以上の結果より、飼料中濃度0.04%、0.2%、1.0%及び5.0%のモンモリロナイトをF344雌雄ラットに13週間反復投与した結果、本試験条件下における無有害作用量 (NOAEL) は雌雄ともに5.0% (ベンゲルフレークの雄：4.01 g/kg/day、雌：3.97 g/kg/day、ベンゲルクリアの雄：3.91 g/kg/day、雌：3.96 g/kg/day) と判断した。

P-70 γ -オリザノール/グリセロール併用投与が磁性ナノ粒子マグネタイト気管内スプレー投与によるラット肺病変に及ぼす影響

○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⁾、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】磁性ナノ粒子マグネタイトは、様々な用途に利用され、医療やバイオテクノロジー分野への応用展開が注目されている。しかしその安全性に関する情報はいまだに限られており、早急な安全性評価が求められている。我々はマグネタイトをラットに気管内反復投与すると肺における慢性炎症及び肺胞上皮の過形成性変化が発生することを観察したが、一方でマグネタイトは遺伝毒性を有するとの報告があり、その発がん性が懸念される。本研究は、ラットを用いて、マグネタイトを気管内投与後に、肺に対する発がんプロモーション作用を有する γ -オリザノールあるいはグリセロールを投与し、マグネタイトによる肺病変に及ぼす影響について検討した。

【方法】実験は、F344/DuCrIjラットの雄120匹を10週齢で6群に分け、3群にMilli Q水を(I・III・V群)、残り3群にMilli Q水で懸濁させたマグネタイトを5.0 mg/kg体重の用量となるように(II・IV・VI群)、いずれも1 mL/kg体重の容量で週1回計4回にわたり、スプレー投与器を用いて気管内投与した。最終投与の1週間後から、I・II群には基礎飼料CE-2と細菌ろ過器を経由した水道水を、III・IV群には1% γ -オリザノール添加飼料と水道水を、V・VI群にはCE-2と8%グリセロール水を、それぞれ32週間自由に摂取させ、その後ラットをと殺して病理学的に検索した。

【結果】試験期間中の体重の推移は対照群(I群)と比較し全群で有意な差がなく、一般症状においても異常な所見は観察されなかった。病理学的検索では、マグネタイト投与群(II・IV・VI群)で肺の重量に有意な増加を認め、解剖時の肉眼観察でII・IV・VI群ラットの肺に腫大及びマグネタイトの広汎な沈着を認めた。病理組織標本の観察においては、II・IV・VI群でマグネタイトを貪食した肺胞マクロファージの肺胞腔への浸潤、炎症反応、II型肺胞上皮の腫大などを認めたが、これらの変化に対して、 γ -オリザノールあるいはグリセロール投与は顕著な影響を与えなかった。

P-71 薬剤抵抗性癌細胞におけるP糖蛋白抗体によるクルクミン含有PLGA(ナノ粒子)の細胞取込みおよび細胞毒性の増強

○Punfa Wanisa¹⁾、Yodkeeree Supachai²⁾、Pitchakarn Pornsiri²⁾、Ampasavate Chadarat³⁾、Limtrakul Pornngarm²⁾

¹⁾名古屋市立大学 大学院 医学研究科 実験病態病理学、²⁾チェンマイ大学 医学部 生化学、

³⁾チェンマイ大学 薬学部 薬理学

Curcumin (Cur) has been reported that insoluble in water is the limited efficiency factors of Cur in vivo. One possible way to improve the water solubility and stability of Cur is to entrap it into poly (DL-lactide-co-glycolide) (PLGA) nanoparticles in the presence of modified-pluronic^R F127 stabilizer (Cur-NPs). Anti P-gp antibody at amino-terminal was conjugated to the carboxy-terminal of modified pluronic^R F127 on the surface of NPs (Cur-NPs-APgp). The physical properties, cellular uptake, specificity and cytotoxicity of NPs were investigated. The particle size of Cur-NPs and Cur-NPs-APgp were 127 and 132 nm, respectively. The entrapment efficiency and actual loading of Cur-NPs-APgp were lower than Cur-NPs. Flow cytometry indicated that Cur-NPs-APgp selectively bind to KB-V1 (high expression of P-gp) than KB-3-1 cells (low expression of P-gp). Cellular uptake of Cur-NPs-APgp in KB-V1 was higher than KB-3-1 cells. Besides, cytotoxicity of Cur-NPs-APgp in KB-V1 cells was higher than in Cur and Cur-NPs. Taken together the results indicated that Cur-NPs-APgp targeted to P-gp on the cell surface membrane of KB-V1 cells could enhance cellular uptake and the cytotoxicity of Cur.

P-72* ブドウ果皮抽出物の混餌投与によりみられたラット耳下腺・腺房上皮細胞における変化について

○井上 薫、高橋 美和、松尾 沙織里、田村 圭、森川 朋美、小川 久美子、吉田 緑

国立衛研 病理部

食品添加物のブドウ果皮抽出物 (GSE) をラットに5.0%の用量で13週間混餌投与した結果、耳下腺・腺房上皮細胞において細胞質の好塩基性化を伴う高度な腫大が認められた。本変化の毒性学的意義を検討する事を目的に、6週齢の雄性F344ラットにGSEを5.0%の用量で4週間混餌投与し (混餌投与群)、その後2週間は基礎飼料のみ給餌し回復期間とした (混餌回復群)。また、苦み成分として知られ、混餌投与によるラット耳下腺の腫大誘発が報告されているタンニン酸を5.0%の用量でGSEと同様にラットに混餌投与し回復性を検索した。一方、GSEが口腔内に接触する事を避けるため、同ラットに5.0%混餌投与相当量のGSE摂取量を4週間強制経口投与し (強制投与群)、その後2週間の回復期間を設けた (強制回復群)。対照群には無添加飼料または溶媒である滅菌蒸留水を各々 GSE投与群と同様に与えた。投与後4週目と回復期間後にラットから耳下腺を採取し、病理組織学的検索を実施した。GSE及びタンニン酸混餌投与群に、耳下腺の明らかな腫大が肉眼的に観察されたが、混餌回復群と強制投与群および各々の対照群には耳下腺の腫大は見られなかった。病理組織学的検索の結果、GSE及びタンニン酸混餌投与群の耳下腺・腺房上皮細胞において、細胞質の好塩基性化を伴う高度な腫大がび漫性に認められた。この変化は、GSE及びタンニン酸の混餌回復群では一部の動物の一部の腺房上皮細胞に軽度認められただけだった。一方、強制投与群及び強制回復群では、耳下腺・腺房上皮細胞の好塩基性化や腫大は認められなかった。以上の結果より、5.0%GSEを13週間投与した時に認められたラット耳下腺の変化は可逆的であり、GSEの苦み成分が慢性的に口腔内に接触した事により惹起された変化であると考えられた。13週間投与において、体重の減少等を伴わないことから、同変化は投与の影響であるものの、悪影響である可能性は低いことが示唆された。

P-73 ガティガムのラットにおける90日間混餌投与毒性試験

○林 新茂¹⁾、Davis Jeffrey²⁾、Moser Glenda²⁾、Borghoff Susan²⁾、Giri Dipak²⁾、Maronpot Robert³⁾

¹⁾三栄源エフ・エフ・アイ(株)、²⁾Integrated Laboratory Systems, Inc.、³⁾Maronpot Consulting LLC

Gum ghatti is a polysaccharides of natural origin used in foods as thickening, gelling, emulsifying and stabilizing agent. For evaluation, groups of 10 male and female Sprague Dawley rats were exposed to 0, 0.5, 1.5, and 5% of gum ghatti in AIN-93M diet for 90 days in accordance with OECD GLP guidelines. All animals survived to terminal necropsy and there were no significant in-life, body weight, feed consumption, ophthalmological or neurological findings. There were no treatment-related clinical pathology changes or gross lesions. The only tissue weight change was an increase in empty and full cecal weights in high dose groups. In H&E-stained tissues there was acute focal ulceration with inflammation in 2/10 high dose females. To confirm potential gum ghatti-related colonic lesions, a second 90-day study was conducted in groups of 20 female rats exposed to 0 or 5% gum ghatti in AIN-93M or NIH-07 diet. The only reproducible findings were increased cecal weights in rats exposed to 5% gum ghatti. There were no gum ghatti-related histopathological changes in the colon or cecum of animals fed either diet. One female control on the AIN-93M diet had an acute focal colon ulcer with inflammation. A PWG unanimously agreed that the focal colon ulcers with inflammation were sporadic changes not attributable to gum ghatti and concluded that colon changes posed a human health concern. It is concluded that the dietary NOAEL levels for gum ghatti in both studies is 5% as follows: First Study, Males - 3044 mg/kg bw/day, Females - 3309 mg/kg bw/day. Second Study, AIN-93M Diet - 3670 mg/kg bw/day, NIH-07 Diet - 3825 mg/kg bw/day.

P-74 RccHanTM:WISTラットの104週間飼育背景データ

○永池 美香、土屋 成一郎、乾 公正

石原産業(株) 中央研究所 安全科学研究室

【背景・目的】 Wistar Hannover (RccHanTM:WIST) ラットを2年間無処置飼育し、背景データを収集したので報告する。
【材料・方法】 4週齢のRccHanTM:WISTラット雌雄各53匹を(株)日本医科学動物資材研究所より入手し、1週間馴化後104週間無処置飼育した。金属製ラックに装着したワイヤーメッシュのステンレスケージで個別飼育し、固形飼料MF(オリエンタル酵母)および水道水を自由摂取させた。試験期間中は13週目までは週1回、以降は4週間毎に体重および摂餌量を測定した。試験途中の死亡・切迫殺例ならびに104週間後の全生存動物を剖検し、病理組織学的検査を実施した。
【結果・考察】 生存率は雄75%、雌66%、最終平均体重は雄584 g、雌409 gであった。剖検で認められた主な所見は、雌雄で下垂体腫瘍、雄で腎臓の表面粗造、腫大及び退色、雌で皮下腫瘍であった。組織学的検査では、下垂体前葉腺腫がそれぞれ雄で19%、雌で66%、雌の乳腺腫瘍が34%に認められた。また本系統の特徴として、胸腺腫が10%の雌に認められた。

P-75 1,1,1-トリクロロエタンの104週吸入暴露によるラット・マウスの発がん性○片桐 卓¹⁾、高信 健司¹⁾、妹尾 英樹¹⁾、梅田 ゆみ¹⁾、大西 誠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

1,1,1-トリクロロエタン (TCE) はモントリオール議定書に規制物質として登録された化学物質であり、成層圏において、潜在的にオゾン層の破壊を起こすため、先進国では、生産と使用が1996年に中止となった。しかし、発展途上国においては、2015年まで、生産と使用が認められている。TCEはこれまでに、発がん性の報告はなく、IARCではGroup 3 (ヒト発がん性に分類出来ない) に分類されている。今回、TCEの長期吸入暴露試験を行ったところ、ラットとマウスに発がん性が認められたので報告する。

【材料・方法】 TCEは和光純薬(株)より純度が95%以上(安定剤として1,4-ジオキサン約3%含有)の試薬を入手し、104週間吸入暴露試験に用いた。試験は、雌雄各50匹/群のF344ラット(6週齢)及びBDF1マウス(6週齢)を用いて、投与群3群と対照群1群の構成で行われ、TCEの投与はラット、マウスの雌雄ともに200,800及び3200 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。

【結果】 ラットでは、雄の腹膜の中皮腫と細気管支-肺胞上皮腺腫の発生増加がみられた。一方、雌では被験物質の投与による腫瘍の発生増加はみられなかった。マウスでは、雄の脾臓由来の悪性リンパ腫とハーダー腺の腺腫、雌の細気管支-肺胞上皮腺腫と肝細胞腺腫の発生増加がみられた。なお、雄の3200ppm群では細気管支-肺胞上皮腺腫、肝細胞癌及び悪性リンパ腫により生存率がやや低下した。

【まとめ】 ラットでは、雄の腹膜の中皮腫、細気管支-肺胞上皮腺腫、マウスでは、雄の脾臓由来の悪性リンパ腫とハーダー腺の腺腫、雌の細気管支-肺胞上皮腺腫と肝細胞腺腫の発生増加が認められ、TCEの発がん性が証明された。(本試験は厚生労働省の委託により実施した。)

P-76* 脳動脈瘤血管内塞栓術用コイルの脊柱傍筋内埋植試験時における組織学的検索法の比較検討

○磯部 厚志¹⁾、寺尾 壽子¹⁾、麻生 良平¹⁾、早場 純子¹⁾、田崎 雅子¹⁾、井上 知紀¹⁾、坂岡 篤¹⁾、蟹沢 成好²⁾、萩原 仁美¹⁾

¹⁾テルモ株式会社 研究開発本部 評価センター、²⁾横浜市立大学医学部

【目的】体内埋込機器や医用材料が埋植部位に及ぼす影響を評価するため、動物を用いた埋植試験が行われている。硬質材料が埋込まれた組織の標本作製では、薄切時に埋植部位周囲の組織を損傷する恐れがあり、試験法ガイダンス (ISO 10993-6 Biological evaluation of medical devices-Part 6および国内試験法ガイダンス) では、試料を抜去する方法や樹脂包埋研磨標本作製の方法が示されている。今回我々は、金属とポリマーから構成される脳動脈瘤血管内塞栓術用コイルに対する組織反応を詳細に観察することを目的として、樹脂包埋薄切標本の作製を試みたので、その結果を報告する。

【方法】ウサギ脊柱傍筋に、直径約0.3mmのプラチナ製脳動脈瘤血管内塞栓術用コイル (HydroSoft™) を長さ1cmに切り出した試料を埋植した。剖検後、脊柱傍筋を10%中性緩衝ホルマリン溶液で固定し、埋植部位の樹脂包埋薄切HE標本 (GMA樹脂包埋) を作製して、パラフィン包埋薄切法、樹脂包埋研磨法 (MMA樹脂包埋) と比較した。尚、パラフィン包埋薄切法では、金属試料を薄切出来ないため、包埋時に試料を抜去した。

【結果および考察】樹脂包埋薄切標本では、コイルならびにポリマー周囲の境界面が保持された標本作製でき、炎症性細胞の細胞種を同定することができた。一方、パラフィン包埋標本では、コイルを抜去したことによりその内側に存在していたポリマーも取り除かれ、埋植試料と組織との境界面には損傷が生じた。樹脂包埋研磨標本では、埋植試料と細胞の界面を保持した標本作製できたが、標本の厚みのため細胞が重層化して観察され、細胞種の同定は困難であった。また、コイルの湾曲により透過性が障害され、コイルの内腔側の境界面が観察出来なかった。以上のことから、樹脂包埋薄切標本は埋植試料に対する局所反応を観察するために有用であることが示された。

P-77* 脳動脈瘤血管内塞栓術用コイルの埋植試験から得られた長期試験実施時の知見と課題

○麻生 良平¹⁾、寺尾 壽子¹⁾、早場 純子¹⁾、磯部 厚志¹⁾、田崎 雅子¹⁾、井上 知紀¹⁾、坂岡 篤¹⁾、蟹沢 成好²⁾、萩原 仁美¹⁾

¹⁾テルモ株式会社 研究開発本部 評価センター、²⁾横浜市立大学医学部

【緒言】体内埋込機器の多くは、長期間体内に埋植されることから、その生体適合性と共に毒性病理学的影響を評価することが必須の要件である。我々は、コイル状金属の内側に膨潤性ポリマーが入った脳動脈瘤血管内塞栓術用コイルの安全性評価の一環として、13および26週間の長期埋植試験を実施した。本試験から得られた各種知見と共に、長期埋植試験実施時に留意すべき問題点につき報告する。

【方法】直径約0.3mmの脳動脈瘤血管内塞栓術用コイル (HydroSoft™) を長さ10mmに切り出した試料 (コイル試料) を、ウサギ脊柱傍筋に13および26週間埋植した。対照として埋植試験標準品である直径1mmの高密度ポリエチレン (HDPE) を長さ10mmに切り出して埋植した。剖検時に埋植部位を含めて脊柱傍筋を採取し、10%中性緩衝ホルマリン溶液で固定した。コイル試料は、剖検時ならびに切り出し時にX線透視下で位置を確認しながら回収を試みた。埋植部位は、細胞反応を詳細に検索するためGMA樹脂包埋薄切標本とし、HE染色を施して光学顕微鏡下で観察した。

【結果および考察】埋植13週間後ではコイル試料が67%、HDPEが79%、埋植26週間後ではコイル試料が47%、HDPEが84%、脊柱傍筋より回収され、その他の試料は体腔内から発見された。事前に行った埋植7日間の検証では、いずれの埋植試料も脊柱傍筋内に認められていたが、今回の結果から埋植期間の長期化に伴い試料が筋肉外へ脱落することが分かった。その傾向はHDPEと比較してコイル試料で顕著であり、試料の移動に径の細さが影響したと推察された。筋肉内から回収した試料について病理組織標本を観察したところ、組織反応が経時的に軽減していることが確認された。試料を長期間埋植する際は、経時的な脱落の発生を考慮して埋植数を増やすこと、埋植位置を経時的にトレースすること、ならびに試料を確実に回収できる方法を導入することにより、精度の高い組織評価が可能になると考えられた。

P-78* ラットの吸入麻酔薬(イソフルラン)、腹腔内投与麻酔薬(メデトミジン・ミダゾラム・ブトルファノール混合剤)の4週間反復投与による影響○長谷川 也須子¹⁾、久保田 久代¹⁾、小林 健一¹⁾、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

【目的】実験動物における麻酔薬の使用は外科手術や安楽殺処置の際に単回あるいは数回投与されることが一般的である。一方、吸入曝露試験の代替試験法である気管内、鼻腔内投与試験では安全かつ正確に被験物質を投与しなければならないため、動物に麻酔処置を施す必要がある。これら代替試験法では単回投与だけでなく反復投与を実施することも少なくないが、麻酔薬の反復投与による影響について詳細な検討はなされていない。今回、我々はラットに吸入麻酔薬であるイソフルラン (IF)、腹腔内投与麻酔薬であるメデトミジン・ミダゾラム・ブトルファノール混合剤 (MMB) をそれぞれ4週間反復投与し、麻酔薬の反復投与による影響について精査した。

【方法】CrI:CD(SD)ラット、8週齢、雄に3.0% IFを10分間、あるいはメデトミジン・ミダゾラム・ブトルファノール (0.15, 2.0, 2.5 mg/kg) を混合したMMBを週1回 (IF-1、MMB-1)、週5回 (IF-5、MMB-5) 曝露し、これらの処置を4週間実施した。対照群には無処置動物を設定した。全動物に対して一般状態の観察、体重及び麻酔時間の測定、血液生化学的検査、病理学的検査を実施した。

【結果および考察】対照群と比較してMMB-5群で体重は試験3週から有意な増加抑制、麻酔時間は試験4週で有意な短縮、右腎臓相対重量では有意な増加が観察された。対照群と比較してMMB-1群で両側腎臓相対重量では有意な増加が認められた。血液生化学的検査、病理学的検査では麻酔薬の反復投与による明らかな影響は認められなかった。以上の結果より、ラットではMMBの反復投与により体重、麻酔時間、腎臓の相対重量に影響を与えることが明らかとなった。一方、IFの反復投与による影響は少なく、吸入曝露試験の代替試験法ではIFによる麻酔法がより適切であると考えられた。現在、麻酔薬のより短期間での影響を確認するため、2週間反復投与試験を実施中である。

P-79* 発がん性試験における人道的エンドポイントの検討○嶋田 悠子、相馬 克実、小山 彩、高橋 尚史、桑原 真紀、吉田 敏則、川勝 尚夫、瀧澤 芳夫、
武田 眞記夫、高橋 研、首藤 康文、上田 英夫、中島 信明、青山 博昭、原田 孝則

一般財団法人残留農薬研究所 毒性部

【背景】動物実験に従事する者は人道的配慮を定めた法令等を遵守し、動物の苦痛を減らすよう努める責任を負う。毒性試験では、鎮痛薬の使用が試験結果に影響を及ぼす懸念があるため、苦痛の管理は殆どの場合、安楽死処置によってなされる。人道的エンドポイントは動物を苦痛から解放するために安楽死処置を施すタイミングを意味し、死亡するまで実験を継続する実験計画 (death as endpoint) に対比して用いられる (日本学術会議, 2006)。特に長期間飼育する発がん性試験で適切な人道的エンドポイントが効果的に適用されるためには、動物の症状や瀕死状態を的確に把握することが重要である。

【目的・方法】ラット及びマウスの発がん性試験に用いられた対照群の切迫殺・死亡動物を対象とし、観察された様々な症状を整理し、衰弱の原因との関連性を把握するとともに、適切な人道的エンドポイントを得る目的で検討を行った。

【結果】死因としてラットでは下垂体腫瘍、乳腺腫瘍、白血病が、マウスでは排尿障害、悪性リンパ腫などが挙げられる。OECDのガイダンス文書では約20%の体重減少を安楽死の目安としているが、下垂体腫瘍ではよろめき歩行や眼脂もみられ、それらも考慮すべきと考えられた。乳腺腫瘍では腫瘤の大きさが体重の約10%以上を判断基準とした場合、腫瘤の発生部位や腫瘤表面の状態も考慮すべきと考えられた。白血病、悪性リンパ腫では皮下リンパ節の腫大、腹部膨満、貧血がみられ、貧血による一般症状の悪化が判断基準となる。

【考察】国際的に人道的エンドポイントの指標が発表されているが、一つの指標を満たす動物が必ずしも激しい苦痛を受けているとは限らず、動物の状態を総合的に判断して、判断時期を誤ることなく安楽死を決定すべきであり、試験の実施にあたっては飼育担当者、試験責任者、選任獣医師が密に連絡を取り合うことが重要であると考えられた。

P-80* 骨器官培養法を用いた薬物誘発性骨細胞毒性の検討

○小島 康裕、二井 愛介、川上 詔夫、村松 大、南澤 由佳、北澤 郁恵、末廣 美紀、中島 真一
 生化学工業(株) 中央研究所 安全性代謝研究室

【目的】開発中の化合物Xをウサギの骨組織近傍に投与した際、骨細胞壊死が観察された。骨芽細胞や破骨細胞と異なり、骨細胞への影響を検討する骨器官培養法や細胞培養系の報告がなかったため、既存の骨器官培養法を応用したウサギにおける評価系を構築し、化合物Xによる骨細胞壊死の機序解明の一助として、骨細胞への直接的な影響の有無を検討した。

【方法】ウサギを麻酔下で安楽死させ、頭蓋骨より骨片(直径4 mm×厚さ1.5 mm)を採取した。採取した骨片を10%FBS含有 α -MEM中で24時間培養し、その後、2.5、25及び250 U/mLの化合物X、陰性対照物質(PBS)及び10 U/mLの陽性対照物質(タンパク質分解酵素)を含む培養液で5日間培養した。培養後、10%中性緩衝ホルマリン液中で1週間固定、一晚脱灰、パラフィン包埋後スライド標本を作製し、ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色を施した。標本について、光学顕微鏡倍率50倍で、各骨片の表面に近い部分を重複なく4視野撮影した。任意の200個の骨小腔から骨細胞を有する骨小腔を数え、陰性対照物質における骨細胞を有する骨小腔数を100%としたときの各試験群における骨細胞を有する骨小腔数の百分率(骨細胞生存率)を算出した。

【結果と考察】化合物Xを含む培養液で5日間培養した場合、いずれの濃度においても骨細胞生存率に陰性対照物質と差はみられなかった。一方、陽性対照物質を含む培養液で培養した場合の骨細胞生存率は5.7%で、強い骨細胞毒性を示した。本結果より、化合物Xは骨細胞に対し直接的な細胞毒性を有しないと考えられた。陽性対照物質では強い骨細胞毒性を示し、その再現性も確認されたことから、本試験法は骨細胞毒性がみられた場合の機序解明に向けたアプローチの一手法になり得ると考えられた。

P-81* カテプシンK阻害剤およびビスホスホネート製剤のラットにおける骨組織への影響

○香川 雄輔¹⁾、久保田 恵¹⁾、南澤 由佳¹⁾、北澤 郁恵¹⁾、村松 大¹⁾、今井 恭子²⁾、中島 真一¹⁾、
 二井 愛介¹⁾

¹⁾生化学工業(株) 中央研究所 安全性代謝研究室、²⁾生化学工業(株) 中央研究所 薬理研究室

【目的】カテプシンK(CatK)は破骨細胞に高発現する蛋白分解酵素で、骨の有機基質を分解することで骨吸収に関与する。CatK阻害剤は、ビスホスホネートとは異なる機序で骨吸収抑制作用を示す新たな骨粗鬆症治療薬として期待されている。本研究では、CatK阻害剤およびビスホスホネート(Alendronate)をラットに投与し、骨組織に対する影響を病理組織学的に比較した。

【方法】8週齢のF344雌ラット(各群6匹)にCatK阻害剤を0(対照)、20または500 mg/kgの用量で、Alendronateを5 mg/kgの用量で14日間反復経口投与した。最終投与の翌日に解剖、大腿骨、脛骨などをEDTA脱灰後、HE、TRAP(酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ)およびCatK免疫染色標本を作製して観察した。

【結果と考察】Alendronate投与群では破骨細胞の大型化、多核化が顕著で、まれにアポトーシスがみられ、骨幹端における一次海綿骨領域が増幅した。CatK阻害剤投与群ではこれらの変化はみられず、またHE染色ではその他の明らかな変化も認められなかった。しかし、TRAP染色では一次海綿骨領域における破骨細胞の染色性が顕著に増強し、またCatK免疫染色でも骨幹端遠位部における破骨細胞の染色性が軽度に増強した。以上、Alendronateではビスホスホネートに特徴的な破骨細胞および骨組織の変化が認められたが、これと比べてCatK阻害剤による変化は軽度であった。CatKとTRAPは共に破骨細胞の細胞内小胞に存在し、その働きが関連していることから、CatK阻害剤によりTRAPの染色性に変化が生じたと考えられた。また、毒性用量においても一次海綿骨領域の増幅がみられなかったことは、正常の骨代謝状態におけるCatK阻害時には、骨吸収の代償機能が存在する可能性が考えられた。破骨細胞の小胞を含む微細構造の変化について、電顕検索を含むさらなる検討が必要と思われた。

P-82* Compound Xの回復性を示さない骨格筋障害

○谷本 友恵¹⁾、平尾 潤¹⁾、山口 崇¹⁾、後藤 真由美¹⁾、伊藤 和美¹⁾、新野 訓代¹⁾、甲斐 清徳¹⁾、森 和彦¹⁾、榎渕 紀子²⁾、寺西 宗広¹⁾、高崎 渉¹⁾

¹⁾第一三共(株) 安全性研究所、²⁾第一三共(株) 薬物動態研究所

【目的及び方法】 開発化合物Compound Xのラット28日間反復経口投与毒性試験で28日間休薬後に増悪する特徴的な骨格筋障害が認められた。その毒性プロファイルを検討するため、Compound X (2000 mg/kg) を5例の雄F344ラットに28日間反復投与し、経時的 (Day 5、8、及び15、並びに休薬後Day 29) に血液化学検査 (骨格筋バイオマーカー含)、組織学的検査 (皮筋、横隔膜、食道、腓腹筋、腰筋、大腿直筋、ヒラメ筋、及び舌)、遺伝子発現解析 (GeneChip Rat Genome 230 2.0 アレイ)、血漿及び筋中薬物濃度測定を実施した。

【結果】 Day 8よりsTnI、Day 15よりCK-MM、Myl3、及びFABP3が増加した。組織学的には、Day 15より横隔膜、腓腹筋、腰筋、大腿直筋、及び舌で軽微から軽度の筋変性を認め、その程度は横隔膜で最も強かった。休薬後Day 29では検査した全ての横紋筋に軽度から中程度の筋変性を認めた。大腿直筋及び横隔膜のslow-myosin及びfast-myosin二重免疫染色では、変化を認めた筋線維の種類に明らかな偏りは認められなかった。薬物濃度測定では、28日休薬後もなお筋中に薬物が残留していた。大腿直筋の遺伝子発現解析では、Cdkn1a、Stat1、Cxcr4、Egr1、Rac1が本剤における骨格筋障害のハブ遺伝子となっていることが示唆されたが、骨格筋毒性の初期発生機序を特徴づける明らかな遺伝子発現変動は認められなかった。

【まとめ】 Compound Xの骨格筋障害では組織学的変化の顕在化より早期に血中sTnIが増加し、筋変性は横隔膜で最も強かった。また、休薬後に筋中への薬物残留が認められ、本剤による回復性を示さない骨格筋障害の一因と考えられた。

P-83* ラット甲状腺の増殖性病変におけるThyroid transcriptional factor-1の免疫組織化学；腫瘍診断における有用性

○見鳥 光、小野 美穂子、村上 雄一、竹内 文乃、井手 鉄哉、仲辻 俊二、大石 裕司、松本 正博
アステラス製薬株式会社 安全性研究所 毒性病理研究室

【目的】 Thyroid transcriptional factor-1 (TTF-1) はヒト甲状腺濾胞細胞、2型肺胞上皮細胞、クララ細胞等に発現し、甲状腺及び肺における腫瘍診断に有用とされている。一方、ラットにおいては甲状腺濾胞細胞の他、C細胞や上皮小体主細胞にTTF-1のmRNAの発現が報告されているが、ラット甲状腺腫瘍の診断に対するTTF-1の有用性については明らかではない。今回、ラット甲状腺及び上皮小体の正常組織・増殖性病変を用いてTTF-1の免疫染色を行い、その腫瘍診断に対する有用性を検討した。

【方法】 104週間がん原性試験の対照群として用いたCrl:CD(SD)IGS BRラットでみられた甲状腺及び上皮小体の増殖性病変 (甲状腺濾胞細胞由来：癌4例・腺腫1例・過形成2例、C細胞由来：腺腫7例・過形成14例、上皮小体由来：腺腫2例・過形成14例) について、抗TTF-1抗体 (mouse anti-rat monoclonal antibody Clone:8G7G3/1, Progen) を用いた免疫染色 (EnVision, DAKO) を行った。その他、Thyroglobulin、Calcitonin、Parathyroid hormone (PTH) の免疫染色も行った。

【結果・考察】 正常濾胞細胞のほぼ100%、C細胞の約70%の核がTTF-1陽性を示したが、上皮小体主細胞は陰性であった。一方、増殖性病変では甲状腺濾胞細胞癌4例、腺腫1例、過形成2例の全例、C細胞腺腫7例中3例 (42.9%)、過形成14例中13例 (92.9%) がTTF-1陽性を示した。上皮小体腺腫2例、過形成15例は全例陰性であった。また、抗TTF-1抗体は正常甲状腺濾胞細胞及びC細胞に比べ、増殖活性の高い細胞でより強い染色性を示す傾向がみられた。以上の結果から、抗TTF-1抗体による免疫染色はラット甲状腺濾胞細胞腫瘍において有用な診断マーカーとなり得ることが示唆された。

P-84 SDラットの顎下唾液腺に自然発生した上皮筋上皮癌の1例

○Li Yinghua¹⁾、Kim Hak-Soo¹⁾、Kang Min-Soo¹⁾、Shin Seo-Ho¹⁾、Koo Kyo-Hwan¹⁾、
Kim Chul-Min¹⁾、Kim Kap-Ho¹⁾、Peck Charles¹⁾、Bae Han-Ik²⁾、Jeong Ji Yun²⁾、
Kang Jin Seok³⁾、Kang Boo-Hyon¹⁾

¹⁾Department of Pathology, Chemon Co. Ltd.

²⁾Department of Pathology, Kyungpook National University Medical Center.

³⁾Department of Biomedical Laboratory Science, Namseoul University

The present report describes a rare case of spontaneous tumor of the salivary gland in a male Sprague-Dawley rat. The clinically confirmed mass rapidly developed in the cervical region between 19 and 21 weeks of age when the animal was terminally sacrificed. At necropsy, a well circumscribed approximately 7 × 6 cm-diameter nodule was found at the site of the salivary gland. The cut surface of the nodule was lobulated with a pinkish tan, soft, and fish-flesh appearance. One large cyst (approximately 3 × 2 cm in size) containing reddish fluid was also present in the nodule. Histopathologically, the tumor, with a partially lobulated structure, was surrounded by a thin fibrous capsule. The majority of tumor cells formed a diffuse solid sheet structure that mainly consisted of small ovoid or spindle-shaped cells. In the tumor periphery, some cells were arranged in nest-like structures. Small duct-like structures lined with monolayered cuboidal epithelial cells or large polygonal clear cells were also observed. Mitotic figures and necrotic foci were frequently observed in solid areas. Immunohistochemically, the tumor cells were positive for cytokeratin, epithelial membrane antigen, vimentin, p63, α-smooth muscle actin, and calponin. The cells were negative for calcitonin, synaptophysin, and chromogranin A. On the basis of these findings the tumor was diagnosed as an epithelial-myoepithelial carcinoma originating from the luminal epithelial cells and myoepithelial cells in the submandibular gland.

P-85* ラット前胃に認められた腺胃、小腸、膵外分泌組織を混じた異所性組織の1例

○加藤 祐樹、柏木 絵美、増野 功一、藤澤 可恵、松嶋 周一、高須 伸夫

塩野義製薬株式会社 創薬・開発研究所 安全性研究部門 病理グループ

【はじめに】消化管における異所性組織はヒトだけでなく、ラットを含めた実験動物においても多数報告されており、成熟した前腸由来組織が筋層など漿膜側に認められることが一般的に知られている。本症例はラットの前胃に認められた異所性組織の1例であるが、腺胃、小腸、および膵外分泌組織が相互に混在して粘膜固有層に局在するとともに、前胃の扁平上皮と連続性を有しており、一般的な消化管の異所性組織と局在や構成要素の点で異なった特徴を有する稀な症例である。

【症例】毒性試験に用いた8週齢、Crl:CD (SD) 雌ラットの1例において、前胃大弯側中央部に5×5 mm大の白色結節が孤立性に認められた。病理組織学的に、重層扁平上皮と連続して、多数の管腔が粘膜固有層に認められ、その周囲は粘膜筋板に囲まれていた。管腔は基底膜を有する成熟した単層円柱上皮から構成され、AB-PASで赤紫色に染まる粘液を管腔側に溜めた上皮細胞や、丈が高く、刷子縁を有する上皮細胞が並び、胃の表層粘液細胞や小腸の吸収上皮と類似した特徴を有していた。また、円柱上皮と連続して、PAS陰性の微細な好酸性顆粒を有し、Chymotrypsinに陽性を示す膵腺房細胞や、円形で中央に核が配置し、低密度に好酸性顆粒を容れ、Proton pumpに陽性を示す壁細胞も管腔周囲に認められた。これらの構成細胞はすべてCytokeratin(AE1/AE3)に陽性を示した。以上の組織所見から、「ラット前胃における腺胃、小腸および膵外分泌組織を混じた異所性組織」と診断した。

【考察】一般的な消化管の異所性組織とは異なる点が多く、正確な病態発生は不明だが、本病変は多分化能を有する細胞が迷入し、その細胞が多方向に分化して形成された可能性や、様々な組織の原基が迷入し、その原基が成熟する段階で互いの組織が連なることで形成された可能性が考えられる。

P-86* SDラットに自然発生した膵管もしくは胆管由来を疑う腺癌の1例

○武田 周二、宮田 かおり、山田 智也、串田 昌彦、緒方 敬子、菊本 裕子、奥田 優、川村 聡
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

【目的】膵管癌および胆管癌は膵管および胆管上皮由来の腺癌であり、一般的にラットでの自然発生はきわめて稀である。今回、SDラットの腹腔内に認められた膵管もしくは胆管由来を疑う腺癌が認められたので、その病理組織学的特徴について報告する。

【材料・方法】本症例は無処置の46週齢SDラットの雄1例であり、死亡日まで、異常は認められなかった。腹腔内において、膵臓を巻き込み、肝臓、胃および結腸と癒着した腫瘤(大小多数)および腸間膜腫瘤が認められた。腫瘍を含む全身諸臓器を10%中性緩衝ホルマリン液で固定後、パラフィン包埋し、HE染色を施し組織学的検査を行った。

【結果】腫瘤は膵臓および腸管と連続し、管腔形成を伴い増殖する上皮系腫瘍細胞、間質系の形態をとる細胞とそれらが混在する細胞で構成され、間質における膠原線維の増生および炎症性細胞浸潤を認めた。腫瘍細胞は異型性が強く、有糸分裂像も認められた。腸間膜腫瘤も同質の病変で構成されていた。同様の病変は肝臓および脾臓の被膜、腎実質および前立腺被膜下でも認められた。その他の所見として、肝臓の広範性壊死、脾臓で造血亢進、右精巣の壊死および炎症が認められた。

【考察】本腫瘍は位置(膵臓を巻き込み、膵臓および腸管と連続)および形態(管腔形成を伴う上皮由来の悪性腫瘍)から、膵管あるいは胆管由来の腺癌が疑われた。ラットにおけるこれらの腫瘍の報告はほとんど無く、本症例は極めて稀な自然発生腫瘍と考えられた。一方、膵管癌および胆管癌は同じ内胚葉前腸上皮に由来し、管腔状に増殖する腫瘍細胞を特徴とする腺癌であることから、これらの鑑別診断のためには更なる検討が必要であると考えられた。現在検討中の免疫組織学的解析結果も合わせて報告する。

P-87* ラットEndometrial stromal sarcomaの多様性

○隈部 志野¹⁾、佐藤 順子¹⁾、友成 由紀¹⁾、橋本 知水¹⁾、高橋 美和²⁾、吉田 緑²⁾、土居 卓也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⁾国立医薬品食品衛生研究所 病理部

【目的】ラットのendometrial stromal sarcoma (ESS) は子宮間質細胞を発生源とする悪性間葉系腫瘍であるが、様々な形態的特徴を有する子宮内腔側へ形成される間葉系腫瘍が便宜的にESSと診断されている。そこで本研究では、過去にESSと診断された症例を再評価し、その特徴を明らかにした。

【材料及び方法】過去にESSと診断された11症例(Fischer344, 7例; Wistar Hannover, 3例; SD, 1例)を形態学的に分類し、spindle cell and collagen rich type (SC, 2例)、schwannoma Antoni A type (SA, 2例)、schwannoma Antoni B type (SB, 3例)、pleomorphic/spindle cell and compact type (PC, 3例)、decidual alteration type (DA, 1例)の5 typeに分けた。これらについて、vimentin, S-100, SMA及びdesmin(筋系マーカー)、CD10(ヒトESSのマーカー)の免疫染色を行った。

【結果及び考察】vimentin及びS-100は、概ね全例で一部もしくは大部分が陽性を示し、CD10は約半数が陽性であった。筋系マーカーの発現はtype別で傾向が認められた。SC及びPCでは発現が高く、平滑筋様の分化が認められた。一方、SA及びSBでの発現は低く、部分的発現を示したSBの1例では、嚢胞構造が目立つ細胞の疎な領域(schwannoma様)では染まらず、腫瘍細胞が比較的密に束状配列をとりながら交錯する領域(leiomyoma様)で発現し、同じ腫瘍の中でも分化の違いが認められた。以上の結果から、子宮間質細胞由来の悪性間葉系腫瘍は、その多分化能によりschwannoma様、leiomyosarcoma様の多彩な形態及び免疫組織化学的特徴を示すが、診断を発生源に求めると、ESSに含めて良いと考えられた。

P-88 Steroidogenic Factor-1により診断されたSprague-Dawleyラットにおける転移を伴う副腎皮質腺癌の1例

○高井 有一、佐野 智弥、渡辺 武志、福田 良

武田薬品工業(株) 医薬研究本部 薬剤安全性研究所

遠隔転移を伴う副腎皮質腺癌が108週齢の雌性Sprague-Dawleyラットにみられたので、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。剖検では左側副腎に腫瘍がみられた他、肺及び肝臓の多発性結節、右側甲状腺の結節並びに縦隔リンパ節の腫大が認められた。組織学的に副腎腫瘍では空胞化を伴う好酸性の豊富な細胞質を有する腫瘍細胞の充実性増殖がみられた。腫瘍細胞の核は、核仁明瞭な円形核で、大小不同を伴い、分裂像も散見された。また、腫瘍細胞の周囲脂肪組織への浸潤及び脈管浸潤像に加えて、転移巣が肺、肝臓及び縦隔リンパ節にみられた。免疫組織化学的には、これらの組織において腫瘍細胞の核がSteroidogenic Factor-1 (SF-1) に陽性を示した。一方、甲状腺結節においても空胞が乏しいものの好酸性の豊富な細胞質を有する腫瘍細胞の充実性増殖がみられたが、免疫組織化学的にSF-1に陰性を示し、calcitoninに陽性を示した。これらの結果から、本例はラットにおける肺、肝臓及び縦隔リンパ節への転移を伴う副腎皮質腺癌、並びに甲状腺のC細胞癌と診断された。SF-1の免疫染色は副腎皮質由来の腫瘍を他のC細胞癌などの内分泌系腫瘍と鑑別する際に有用であると考えられた。

P-89* Busulfanに暴露されたラット胎児及び新生児の病理組織学的検索

○斎藤 翼、安藤 亮、大平 東子、池崎 信一郎、星谷 達、田村 一利

(株)ボゾリサーチセンター

【緒言】 Busulfanは抗腫瘍作用を有する二官能性のアルキル化剤であり、その高用量ないし長期投与によって成熟ラットの消化管、リンパ組織、生殖器、神経組織及び眼組織に病変を惹起することが知られている。我々はこれまでに胎児及び新生仔の中樞神経及び眼組織におけるBusulfan誘発病変について本学会にて報告した。今回はラット胎児及び新生仔の中樞神経系及び眼組織以外の組織に関して報告する。

【材料と方法】 [胎仔] 妊娠13日のCrI:CD(SD)ラットを用いた。Busulfanはオリブ油に懸濁し、0及び30 mg/kgを投与した。投与後12、24、36、48、72及び96時間に剖検を行い検索に供した。

[新生仔] 生後6日の雄性CrI:CD(SD)ラットを用いた。0及び20 mg/kgのBusulfanを投与した。投与後1、2、4、7及び14日に剖検を行い検索に供した。

【病理検査】 各臓器は、10%中性ホルマリン液で固定後、常法に従いパラフィン切片を作製、ヘマトキシリン・エオジン染色を施し、鏡検した。

【結果】 [胎仔] 肺、腎臓、肝臓、消化管、頭蓋顔面組織、下顎、肢芽及び尾部において単細胞壊死が観察された。単細胞壊死は、投与24時間後から72時間後にかけて観察され、96時間後にはほぼ消失した。

[新生仔] 心臓、肺、腎臓、消化管、皮膚、骨、胸腺及びリンパ節において投与1日後から7日後までに単細胞壊死が観察されたが、14日後には消失した。一方、精巣で単細胞壊死、肝臓と脾臓中の造血細胞及び骨髄では造血細胞の減少が投与1日後から7日後までに観察された。その後、精巣で生殖細胞の減少、肝臓、脾臓及び骨髄の造血細胞の減少が確認され、当該病変は14日後にも未だ観察された。

【考察および結語】 今回の検索で、ラット胎児及び新生児におけるBusulfan誘発病変の各器官及び組織分布と性状が初めて明らかとなり、文献にみられる成熟ラットのそれを含め、ラットの成長に伴うBusulfan誘発病変の推移を辿ることが可能になった。

P-90* ラット悪性線維性組織球腫(MFH)由来の異なるクローン細胞株(MT-8とMT-9)の免疫組織化学的及び網羅的遺伝子解析

○小寺 喬^{1,2)}、市川 智彩¹⁾、Tennakoon Anusha¹⁾、井澤 武史¹⁾、桑村 充¹⁾、越智 誠支²⁾、山手 丈至¹⁾

¹⁾大阪府立大学大学院 生命環境科学研究科、²⁾日本新薬(株) 安全性・動態研究部

【目的】MFHは成人において最も一般的な間葉系悪性腫瘍である。MFHの起源細胞は多分化能未分化間葉系細胞であるとされているが、その組織発生および細胞特性は未だ不明な点が多い。今回、ラットに自然発生したMFHから確立されたMT-8とMT-9クローン細胞の培養細胞と同系ラットでの誘発腫瘍を用いて、細胞特性の違いを免疫組織化学的及び網羅的遺伝子解析により検討した。

【方法】MT-8およびMT-9の培養細胞と、 3×10^6 個の細胞を同系F344雄ラットの皮下に接種し約3週間後に形成された誘発腫瘍を用いた。誘発腫瘍から切片を作製し、種々の抗体を用いて免疫組織化学的に解析した。さらに培養細胞と誘発腫瘍からmRNAを抽出し、網羅的遺伝子解析を行った。

【結果】誘発腫瘍のHE所見では、MT-8には卵円形の腫瘍細胞が充実性に増殖したのに対し、MT-9には紡錘形細胞のstoriform状の増殖様式がみられ、異なる組織像を示した。また、免疫組織化学的染色では、MT-8はvimentinおよび α -SMA等の抗体に陰性であったが、MT-9はこれら抗体に加えA3, nestin、Thy-1、CD34抗体に陽性を示した。その他種々の抗体についてもさらに検討中である。網羅的遺伝子解析の結果、MT-9での発現の2倍以上を示すMT-8での遺伝子はin vitroで2,344個、in vivoで2,871個、一方MT-8での発現の2倍以上を示すMT-9での遺伝子はin vitroで2,313個、in vivoで1,941個が検出された。間葉系細胞、脂肪細胞、筋肉細胞および上皮細胞の分化に関連する遺伝子はMT-8と比較してMT-9でより多く発現しており、さらにMT-8またはMT-9において幹細胞、間葉系細胞、骨芽細胞、軟骨細胞、筋肉細胞および上皮細胞等の分化に関連する遺伝子は培養細胞と比較して誘発腫瘍でより多く発現していた。分化に関わる遺伝子の変動についてはさらに解析中である。

【まとめ】MT-8はMT-9と比較して、より未熟な間葉系細胞の特性を有する可能性がある。これらの細胞株は同一のラットMFHに由来することから、MFHには異なる分化程度の腫瘍細胞が混在していることが示された。

P-91* 医薬品のがん原性評価の方法について-ICH S1 EWGにおける検討内容

○野中 瑞穂¹⁾、小川 久美子²⁾、小野寺 博志¹⁾、中江 大³⁾、西川 秋佳²⁾

¹⁾(独)医薬品医療機器総合機構、²⁾国立医薬品食品衛生研究所、³⁾東京都健康安全研究センター

【概要】日米EU医薬品規制調和国際会議(ICH)において、特定の条件を満たせば、低分子医薬品のげっ歯類2年間がん原性試験を省略しても発がんリスクを評価可能な場合があるとの仮説に基づき、現行のがん原性試験(S1)ガイダンスの改定が検討されている。この検討に当たり、規制当局間で、S1改定に対するあらたな検証の必要性が合意され、省略要件に関する科学的根拠が明記された文書案(Regulatory Notice Document, RND)について、本邦においても厚生労働省より広くパブリックコメントを募集することになった。

【背景】米国研究製薬工業協会(PhRMA)による182の化合物のデータベース分析結果(Sistare et al, 2011, Toxicol. Pathol. 39, 716-744)並びにアメリカ食品医薬品局(FDA)、欧州医薬品庁(EMA)及び日本製薬工業協会(JPMA)のデータベース解析結果等から、ラット慢性毒性試験において病理組織学的に発がん関連病変が観察されない結果は、遺伝毒性の陰性結果およびホルモンへの影響がないことと併せると、ラットがん原性試験の陰性結果を予測するうえで有用であるとされた。それを受けて、ICH S1専門家ワーキンググループで議論した結果、それらに加えて薬理学的作用についても予測要因とすることにより、一定の確実性をもってラット2年間がん原性試験結果が明らかに陽性又は陰性であろうと予測できる場合があるものと合意された。ただし、ラット2年間がん原性試験結果が十分な確実性をもって予測できない場合も存在し、そのような場合には当該がん原性試験を実施する意義がある。しかし、これらの結論はいずれも既存データの検討の結果得られたものであることから、現行のS1ガイドラインの改定の必要性を判断するに当たっては、あらたにデータを収集し検証する必要があると合意された。今後は、パブリックコメントを踏まえてRNDを確定し、2014年6月から約2年間の予定で実施されるがん原性試験の前向きな検証を行い、その結果を踏まえてS1ガイドライン改定の必要性について判断する予定である。

IATPからのお知らせ

An Overview of the National Toxicology Program Modified Approach for Histopathological Evaluation of the Rodent Nervous System

IATP Lecture, JSTP, January 30, 2012

Robert R. Maronpot, Raleigh, North Carolina

In an effort to better assess potential toxicant effects on neurochemical pathways, the National Toxicology Program has modified their sampling protocol to obtain seven sections of brain in addition to sampling other components of the central and peripheral nervous system. This change from three to seven sections of brain now allows for routine examination of critical neurological functions, motor and sensory functions, cognition, homeostasis, and common target sites of known neurotoxicants. The goal of this brief overview is to present the basic features for more comprehensive routine sampling of the brain of rats and mice. The anatomical regions sampled in the seven sections include the following (See Rao et al., (2011) *Toxicologic Pathology* 39:463-470):

Level	Anatomic Region	Functional Significance
1	Olfactory bulb	High cell turnover; vulnerable to inhaled toxicants
2	Frontoparietal cortex; basal ganglia	Learning; behavior; involuntary motor activity
3	Parietal cortex, thalamus, hypothalamus, hippocampus	Motor function; integration of neuroendocrine, sensory and behavioral systems
4	Midbrain	Substantia nigra, Parkinson's disease; raphe nuclei and reward/addictive responses
5	Posterior colliculus	Auditory reflexes; high neuronal metabolic rate
6	Cerebellum, pons	Posture, balance, muscle tone, coordination of voluntary motor activity
7	Medulla	Circumventricular organ vulnerability; hypoglossal nucleus, amyotrophic lateral sclerosis

The new sampling procedure is recommended for rodent toxicity and carcinogenicity studies and can include additional sampling to account for in-life clinical signs. This new approach will allow us to better assess the potential effects of the ever-increasing use of chemicals on the nervous system.

Mechanisms of Cell Death

IATP Lecture, Japan, January 30, 2012

Susan A. Elmore, National Toxicology Program, National Institute of Environmental Health Sciences

One of the most fundamental concepts in toxicology is that the actual harm done by toxic compounds is in living flesh and blood, ultimately at the level of the cell and its component parts. This lecture will cover the different causes of cell injury, the various cellular responses to injury, including hypertrophy, hyperplasia, atrophy, metaplasia, dysplasia, and cell death. This will be followed by a discussion of the differences between apoptosis and necrosis in term of mechanisms and morphology. Finally, the various mechanisms of apoptosis (extrinsic pathway, intrinsic pathway, perforin/granzyme pathway) will be discussed in detail.

Cell death occurs in normal development and maturation but can also be a response to xenobiotics, microorganisms, and physical agents (i.e. trauma, radiation, temperature extremes) or to endogenous changes such as inflammation, genetic derangements, or altered blood supply. Cell death occurs by two primary alternative modes: apoptosis and necrosis. An understanding of the physiologic conditions and biochemical changes under which cell injury and death occur continues to be an important focus of biomedical research. While this lecture will focus mainly on the cell, it is important to keep in mind that cells do not live in isolation, but rather constantly interact with their surrounding matrix components and the total milieu of extracellular fluids, including many biochemical mediators. It is the nature of the injury, the duration of the injury, and body's response to that injury that ultimately determines the fate of the cell.

著者索引

A

足立 健児 P-11
 吾郷 恭平 P-51
 相原 尚之 P-37
 相磯 成敏 P-18、P-19、P-21、
 P-75
 赤木 純一 P-25、P-58、P-69
 赤堀 有美 O-12、P-30
 赤根 弘敏 O-12、P-30、P-31、
 P-48、P-62
 Ampasavate Chadarat P-71
 安藤 弘 P-70
 安藤 稔 O-02
 安藤 亮 P-89
 Anusha Tennakoon P-02
 Anzai Takayuki P-39
 青山 博昭 P-28、P-35、P-79
 荒木 雅行 P-35
 荒木さおり P-06、P-42
 朝倉 省二 P-34
 朝元 誠人 P-49、P-66
 芦原 基起 P-11
 麻生 良平 P-76、P-77

B

馬場 智成 P-06
 Bae Han-Ik P-84
 Baik Yeongjun P-38
 Boorman Gary A. SS-1-1
 Borghoff Susan P-73
 Boros Gábor O-08

C

Chen Yu P-11
 Chen Yu Jau O-17
 千葉 悠子 P-35
 Cho Young-Man P-24、P-25、
 P-58、P-69

D

Davis Jeffrey P-73
 堂口 裕士 P-60

土居 卓也 P-43、P-87
 土井 悠子 P-56

E

Elmore Susan A. SS-1-2
 遠藤 仁 P-16

F

藤江 秀彰 P-28
 藤平 司郎 O-15
 藤井 悦子 O-17
 藤岡 正喜 O-03、O-10、O-14、
 P-17、P-55
 藤岡 重和 P-65
 藤澤 可恵 P-85
 深町 勝巳 O-04、P-22、P-23
 福田 良 P-88
 福永 賢輝 P-55
 福島 昭治 P-01、P-18、P-19、
 P-21、P-56、P-75
 船橋 斉 P-36
 古川 文夫 P-14
 古川 正敏 O-15
 二口 充 O-04、P-22、P-23

G

Gaehle Susan P-39
 Giri Dipak P-73
 Golbar Hossain M. P-03
 後藤 彩 P-34
 後藤真由美 P-82

H

萩原 昭裕 P-01、P-56
 萩原 仁美 P-76、P-77
 羽倉 昌志 P-34
 浜村 政夫 O-05、P-54
 Han Beom Seok P-27
 羽野 寛 P-16
 原 明 O-13、P-64
 原田 孝則 P-28、P-35、P-79
 長谷川和成 P-45

長谷川也須子 P-78
 橋本 希 P-33
 橋本 知水 P-87
 畑 千恵 O-02
 早川 和宏 P-34
 林 新茂 P-73
 林 修次 O-17、P-11
 Henderson Wendy P-39
 日比 大介 P-52、P-53
 岩田 聖 P-39
 日置 孝徳 P-50
 平賀 武夫 O-15
 平尾 潤 P-82
 平田 暁大 O-13、P-64
 平塚 一幸 P-51
 広瀬 明彦 P-20
 Hoenerhoff Mark J. SS-1-3
 星谷 達 P-46、P-89
 細井 理代 P-45
 細川 暁 P-34
 Hossain MD. Golbar P-02

I

市川 智彩 P-02、P-03、P-90
 井手 美佳 O-01
 井手 鉄哉 P-83
 池崎信一郎 P-89
 今井 順 O-16
 今井 恭子 P-81
 今井 則夫 P-01、P-56
 今井 俊夫 P-57
 今井田克己 P-32、P-33、P-44、
 P-59
 今田中伸哉 O-12、P-30
 猪又 明子 P-20、P-70
 猪又 晃 P-34
 井上 薫 O-07、P-72
 井上 知紀 P-76、P-77
 乾 公正 P-74
 入江かをる O-07
 石井 雄二 O-11、P-04、P-05、
 P-15、P-52、P-53

磯部 厚志	P-76、P-77	勝田 修	P-40	久保 喜一	P-70
板橋 恵	O-12、P-30、P-31、 P-48、P-61	Kavindra Wijesundera	P-02	久保田久代	P-78
伊藤 富美	P-51	河部 真弓	P-14	久保田 恵	P-81
伊藤 和美	P-82	川井 康司	O-01	工藤佳代子	P-46
伊藤 浩太	O-15	川上 詔夫	P-80	隈部 志野	P-87
伊藤 恒夫	P-11	川勝 尚夫	P-79	熊谷 文明	P-68
伊藤 格	O-16	川村 聡	P-86	久野 壽也	O-13、P-64
井澤 武史	P-02、P-03、P-90	川村 祐司	P-51	倉田 靖	P-51
泉 啓介	P-13	川迫 一史	O-05、P-54	黒田 佳苗	P-41
		木島 綾希	O-11、P-04、P-05、 P-15、P-52、P-53	黒田 顕	O-11、P-04、P-05、 P-15、P-53
J		菊地 聡美	O-06	黒澤 努	SS-2-4
Jang Ho-Song	P-38	菊本 裕子	P-86	串田 昌彦	P-17、P-47、P-86
Jeong Jayoung	P-27	Kim Chul-Min	P-84	串間 清司	P-41
Jeong Ji Yun	P-84	Kim Duyeol	P-27、P-38	桑形麻樹子	P-68
金 美蘭	P-52	Kim Hak-Soo	P-84	桑原 真紀	P-28、P-35、P-79
		Kim Hye-Jin	P-38	桑村 充	P-02、P-03、P-90
		Kim Kap-Ho	P-84	桑田 和倫	O-01
		Kim Myoung Jun	P-27、P-38	Kwon Min	P-27
		Kim Sun-Hee	P-38		
K		木村 均	O-16	L	
角 将一	O-02	木村 重紀	P-36	Laast Victoria	SS-1-1
香川 雄輔	P-81	岸 宗佑	P-32、P-33、P-44、 P-59	Lee Hye-Yeong	P-27
甲斐 清徳	P-82	北野 光昭	O-10	Lee Jong Kwon	P-27
梯 アンナ	O-03、O-09、O-14、 P-01	北澤 郁恵	P-80、P-81	Lee Mi Ju	P-27、P-38
上家 潤一	P-06、P-07、P-37、 P-42	Klaunig James E.	P-47	Lee Mi-Young	P-27
金子 公幸	O-02	Ko Kyeoung-Nam	P-38	Lee Sunghee	P-38
Kang Boo-Hyon	P-84	小林 亮介	P-06	Lee Yong-Hoon	P-27、P-38
Kang Jin Seok	P-27、P-38、 P-84	小林 梓	O-05、P-54	Li Yinghua	P-38、P-84
Kang Jongkoo	P-27	小林 健一	P-78	Limtrakul Pornngarm	P-71
Kang Jong-Koo	P-38	小林 亮介	P-42、P-43	龍 訥	P-08、P-09
Kang Min-Soo	P-84	小林 稔秀	O-02	M	
蟹沢 成好	P-76、P-77	幸田 修一	P-29	Maraschiello Ciriaco	P-39
神吉 将之	O-03、O-09	児玉 幸夫	P-04、P-15	Maronpot Robert	P-73
菅野 剛	O-05、P-54	小池 恒雄	O-16	Robert R. Maronpot	特別口演
檜村 茜	P-07、P-37	小島 肇	O-15	丸茂 秀樹	P-68
柏木 絵美	P-85	小島 康裕	P-80	丸山 裕子	P-50
春日 敏郎	P-41	爰島 洋子	P-43	Maslej Peter	O-08
片桐 卓	P-18、P-19、P-21、 P-75	小松 豊	P-28	榊淵 紀子	P-82
片山 亮介	P-60	小西 良子	P-52、P-53	増野 功一	P-85
加藤 淳彦	O-17、P-11	今野 和則	P-68	松原 亨一	O-17、P-11
加藤 千恵	O-17、P-11	Koo Kyo-Hwan	P-84	松本 泉美	P-36
加藤 寛之	P-49	小寺 喬	P-90	松本 正博	P-41、P-67、P-83
加藤 実	O-03	河内 眞美	P-36	松本 茂樹	O-06
加藤 祐樹	P-85	小山 彩	P-28、P-35、P-79	松尾沙織里	O-07、P-72
可徳小四郎	O-05、P-54	小山 直己	P-34		

松嶋 周一	P-85	中野 裕子	P-32、P-33、P-44、 P-59	奥村 真衣	O-10
松下 久美	O-16			大波 冴子	P-24、P-25、P-58、 P-69
松下 幸平	O-11、P-04、P-05、 P-15、P-53	中尾 一成	O-06	大西 保行	O-17
松浦 正男	O-15	中島 弘尚	P-14	小野美穂子	P-67、P-83
南澤 由佳	P-80、P-81	中島 伸明	P-35	小野寺博志	P-91
見鳥 光	P-83	中島 信明	P-28、P-79	大須賀 勇	O-02
満石三喜男	O-05、P-54	仲辻 俊二	P-41、P-67、P-83	押方 孝文	O-05、P-54
三森 国敏	O-12、P-26、P-30、 P-31、P-48、P-61、 P-62	中澤 朋美	P-46	太田 泰史	P-45
		奈良間 功	P-45	大山 典子	P-16
宮川 宗之	P-78	内木 綾	P-66		
宮島留美子	P-45	二井 愛介	P-80、P-81	P	
宮田かおり	P-86	新野 訓代	P-82	Park Sun Hee	P-27、P-38
宮内 慎	O-06	二宮美美子	P-32、P-33、P-44、 P-59	Peat Tyler J.	P-47
三好 昌夫	O-17、P-11	西原 香織	P-46	Peck Charles	P-84
水野 英明	P-11	西川 秋佳	O-07、P-24、P-25、 P-58、P-69、P-91	Pitchakarn Pornsiri	P-71
水田 保子	P-25、P-58、P-69	西川 智美	O-01	Punfa Wanisa	P-08、P-71
森 和彦	P-82	西村 栄美	SS-2-3		
森 政道	P-67	西村 哲治	P-20	R	
森川 朋美	P-72	西村 友成	P-29	六川 潤美	O-15
森本 純司	P-65	能美 健彦	O-11、P-53		
盛田 怜子	P-26、P-48、P-61、 P-62	野本 眞博	P-51	S	
Moser Glenda	P-73	野中 瑞穂	P-91	齊尾 征直	P-60
本橋 昌也	P-16	能登 貴久	P-41、P-67	齋藤 文代	O-12、P-30
元村 淳子	P-28	沼野 琢旬	P-14、P-22	齋藤 翼	P-89
村井 厚子	O-13、P-64			斉藤 義明	P-68
村上 宙	P-02	O		斉藤 直美	P-41
村上 雄一	P-83	越智 誠支	P-90	榊原 隆史	O-15
村松 大	P-80、P-81	落合 忍仁	P-29	坂本 義光	P-20
武藤 朋子	P-16	小笠原裕之	P-29	坂岡 篤	P-76、P-77
		小縣 昭夫	P-20	坂下 悠	P-06、P-42
N		緒方 敬子	P-86	佐野 智弥	P-88
永池 美香	P-74	小縣 昭夫	P-70	竿尾 光祐	P-32、P-33
長野 嘉介	P-01、P-18、P-19、 P-56、P-75	小川久美子	O-07、O-11、P-04、 P-05、P-15、P-24、 P-25、P-52、P-53、 P-58、P-69、P-72、 P-91	佐藤 寛子	O-01
長澤 明道	P-70			佐藤 順子	P-43、P-87
永田百合子	O-02	大平 東子	P-89	佐藤 慎哉	P-08、P-09
内木 綾	P-09、P-49	大石 巧	O-12	佐藤 洋	P-50
中江 大	P-20、P-70、P-91	大西 誠	P-75	関 由妃	P-34
中原 豊	P-41	大嶋 浩	O-04	妹尾 英樹	P-18、P-19、P-21、 P-75
中島 真一	P-80、P-81	太田恵津子	P-34	Seok Ji Hyeon	P-27
中村伊都子	O-01	大石 裕司	P-14、P-83	斯波真理子	P-65
中村 隆一	P-29	岡部 恭子	O-14、P-17、P-55	柴田 映子	P-65
中野今日子	P-34	岡村 啓史	P-36	柴田 雅朗	P-65
仲野 善久	O-06	奥田 優	P-86	渋谷 淳	O-12、P-26、P-30、 P-31、P-48、P-61、 P-62

志賀 敦史	P-45	高松 学	O-13	U	
嶋田 悠子	P-28、P-35、P-79	高松 玲佳	P-60	内田 和美	O-02
霜山奈津美	P-46	高見 成昭	P-45	打屋 尚章	P-57
Shin Seo-Ho	P-84	高信 健司	P-18、P-19、P-21、P-75	上田 英夫	P-79
白井 勝	P-16	高崎 涉	P-82	植田 芳英	P-45
白井 智之	P-08、P-09、P-49	高須 千絵	P-13	上野 陽子	P-67
白木 彩子	O-12、P-30、P-31、P-48	高須 伸夫	P-85	梅田 ゆみ	P-18、P-19、P-21、P-75
代田 欣二	P-06、P-07、P-37、P-42	高須 伸二	O-11、P-04、P-05、P-15、P-53	梅村 隆志	O-11、P-04、P-05、P-15、P-52、P-53
代田真理子	P-42	武田眞記夫	P-79	梅屋 直久	P-50
首藤 康文	P-28、P-79	武田 周二	P-86	白見 憲司	P-68、
Sohn Woo Chan	P-27	武下 正憲	O-14	W	
相馬 克実	P-28、P-35、P-79	武田 賢和	P-34	若林 伸	P-07
園田 二郎	P-34	竹内 文乃	P-83	涌生 ゆみ	P-43、P-87
竿尾 光祐	P-59	武内 隆志	O-06	和久井 信	P-16
早場 純子	P-76、P-77	瀧澤 芳夫	P-79	Wang Liyun	P-30、P-31
末廣 美紀	P-80	玉野 静光	P-56	王 リユン	O-12、P-62
末水 洋志	SS-2-2	田村 一利	P-46、P-89	鰐淵 英機	O-03、O-09、O-10、O-14、P-01、P-17、P-55
菅原 豪	P-07	田村 圭	O-07、P-72	渡辺麻衣子	P-53
杉江 茂幸	P-10	田村幸太郎	P-14	渡辺 武志	P-88
勝呂 繭子	P-56	田中 勲	P-16	渡邊 剛	O-17、P-11
酒々井眞澄	O-04、P-22、P-23	田中 雅治	O-01	Weber Klaus	SS-1-4、P-39
鈴木 勇	P-25、P-58、P-69	田中 美有	P-03	魏 民	O-03、O-09、O-10、O-14、P-01、P-17
鈴木 勝也	O-02	田中 卓二	P-10	魏 眠	P-55
鈴木 和彦	O-12、P-26、P-30、P-31、P-48、P-61、P-62	谷合枝里子	P-26、P-61、P-62	X	
鈴木 幸吉	P-51	谷本 友恵	P-82	謝 暁利	P-17、P-55
鈴木 雅実	O-17、P-11	田崎 雅子	P-76、P-77	徐 結苟	P-23
鈴木 信介	O-16	Tennakoon Anusha	P-90	Y	
鈴木 周五	P-08、P-09	寺西 宗広	P-82	矢吹 慎也	O-16
鈴木 倫	O-02	寺尾 壽子	P-76、P-77	八舟 宏典	P-26、P-48、P-61、P-62
鈴木 裕太	P-52	寺島 弘道	P-11	山田 萌	P-37
T		栃内 亮太	O-02	山田 直明	P-43
多田 幸恵	P-70	栃谷 智秋	P-36	山田 智也	P-86
多胡 善幸	O-10	富田 弘之	P-64	山田 泰広	P-64
高橋 博	P-70	友成 由紀	P-87	山口 崇	P-82
鷹橋 浩幸	P-16	豊田 武士	P-24、P-25、P-58、P-69	山口 裕子	P-46
高橋 研	P-79	豊沢かおる	P-36	山川けいこ	P-32、P-33、P-44、P-59
高橋 真美	P-57	坪田健次郎	P-67	山川 佳香	P-67
高橋 美和	O-07、P-72、P-87	土谷 稔	P-43、P-87		
高橋 尚史	P-28、P-35、P-79	土屋成一朗	P-74		
高橋 智	P-08、P-09、P-49、P-66	土屋 敏行	P-51		
高井 有一	P-88	津田 洋幸	O-04、P-22、P-23		
		塚本 徹哉	P-12、P-64		
		築館 一男	P-34		
		堤 康央	P-68		

山本 昌美	P-64	姚 玉林	P-40	吉田 敏則	P-28、P-35、P-79
山本 雅之	SS-2-1	安野 恭平	P-06、P-42	吉島 賢一	O-16
山野 莊太郎	O-03、O-09、O-10、 O-14、P-17、P-55	Yodkeeree Supachai	P-71	吉見 直己	P-60
山手 丈至	P-02、P-03、P-90	横平 政直	P-32、P-33、P-44、 P-59	吉岡 靖雄	P-68
柳井 徳磨	O-13	吉田 緑	O-07、P-24、P-72、 P-78、P-87	湯浅 敦子	P-50
矢野 範男	P-70			湯澤 勝廣	P-70

第29回日本毒性病理学会 講演要旨集

編集 第29回日本毒性病理学会 事務局
〒303-0043 茨城県常総市内守谷町4321番地
一般財団法人残留農薬研究所
責任者 原田 孝則
製作 株式会社プロコムインターナショナル

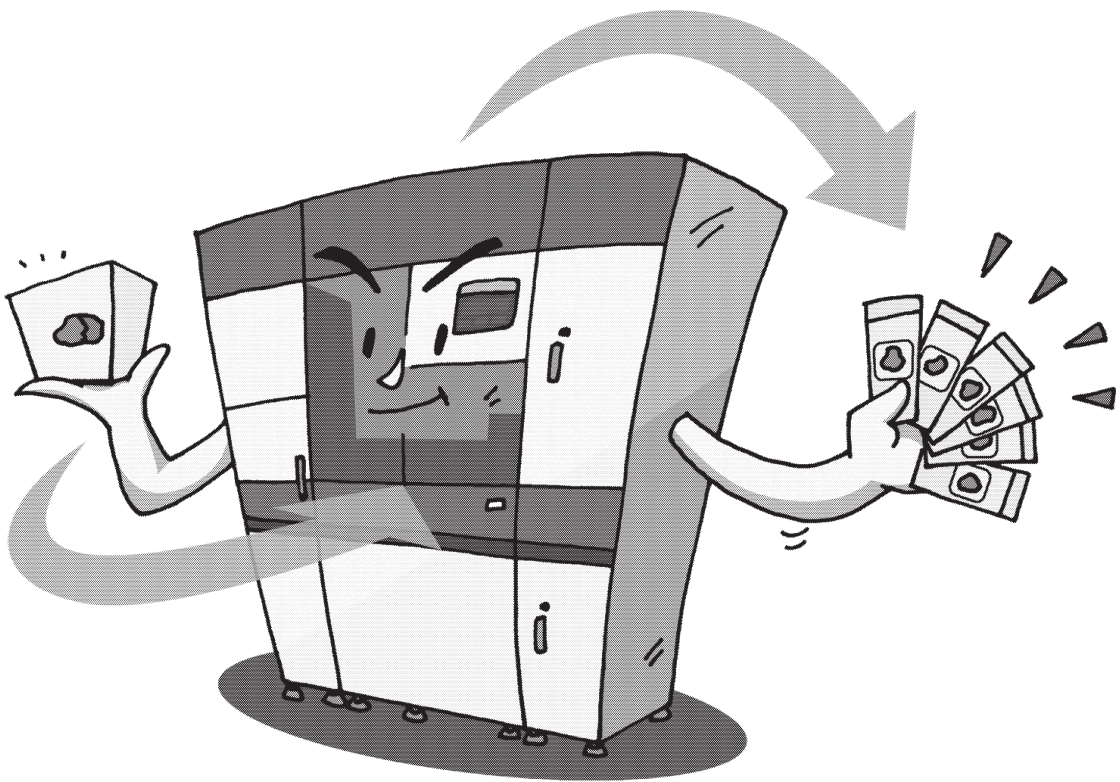
煩わしかった

切片作製を自動化!

組織切片自動作製装置シリーズ

●パラフィン包埋ブロックの薄切からスライドガラスへの貼付、伸展、乾燥を自動化!

標本作製の
強力パートナー



さらに、スライドガラスへの印字も自動に!

組織切片自動作製装置 AS-400M

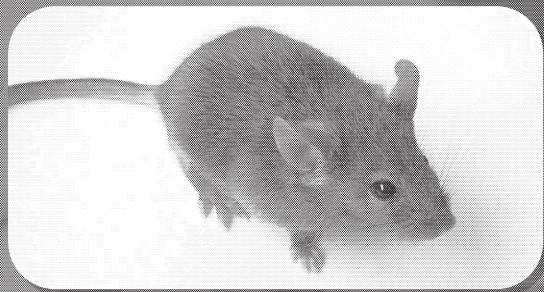
医療機器製造販売届出番号：27B3X00221100200

- “自動刃交換機能”標準搭載。手作業での刃交換作業不要。
- ブロック表面角度、高さを自動計測する“自動煽り機能”標準搭載。
- 自動サンプル管理（オプション）で、ヒューマンエラーとサンプル間違いに対応。

新発売

詳しくは、弊社展示ブースまたはホームページまで → <http://www.kurabo.co.jp/bio/>





rasH2マウス

Jic:CB6F1-TgrasH2@Jcl

厚労省・米国FDA・欧州CPMPが認めたマウス

国際的な評価プロジェクトの結果から、
新薬の申請用試験データとして認められています。

rasH2マウスの近況

米国研究製薬工業協会は加盟企業から提供された182化合物のデータを解析し、一定の条件を満たす医薬品については本試験法*とラット6か月慢性毒性試験で得られた成績を組み合わせることで、ラットがん原性試験を実施せずに医薬品のがん原性陰性の評価が可能であることを示し、日本製薬工業協会による追加調査でも同様の結論が得られました。これらの調査を踏まえて、2011年6月にはがん原性試験の必要性に関するICH S1Aガイドライン改訂の必要性を議論する非公式作業部会(IWG)が編成され、2012年2月28日には専門家作業部会(EWG)を結成することに日・米・EUの産官6団体が合意し、検討が進められています。

rasH2マウスを選択する理由

幅広い発がん感受性と厳格な品質管理

5~6年毎に個体復元と1~2年毎に発がん感受性試験を実施しモニタリング

※これらの作業及び種コロニーの更新は日本クレア・Taconic同時に行います。

上市された製品と使用系統 (米国データ)

実験動物中央研究所 調査

	p53KO	rasH2	Tg.AC
until2003	7	1	2
2004	3	0	0
2005	4	0	2
2006	3	0	0
2007	1	3	2
2008	3	1	1
2009	1	3	0
2010	3	6	1
2011(~Aug.)	3	2	1

剤型変更、投与経路拡大等による重複は除外

※短期発がん性試験は、試験期間、費用、動物数、検体量を削減する

● 試験期間 **1/3!**

2年間試験 24ヵ月 (投与期間) 12ヵ月 (病理解析 他)

短期試験 6ヵ月 6ヵ月

● 試験費用 **1/2!**

2年間試験 2.0~3.0 万ドル
短期試験 1.0~1.2 万ドル

● 使用動物数 **1/2!**

2年間試験 500 - 750 匹
短期試験 250 - 350 匹

● 使用する被験物質 **1/9!**

動物福祉にも
多大に貢献
します



小さな生命から大きな未来へ

日本クレア株式会社

<http://www.CLEA-Japan.com>

AD受注センター 〒153-8533 東京都目黒区東山1-2-7 TEL.03-5704-7123
 東京AD部 〒153-8533 東京都目黒区東山1-2-7 TEL.03-5704-7050
 大阪AD部 〒564-0053 大阪府吹田市江の木町6-5 TEL.06-4861-7101
 札幌出張所 〒063-0849 札幌市西区八軒九条西10-4-28 TEL.011-631-2725
 仙台出張所 〒983-0047 仙台市宮城野区銀杏町14-12 TEL.022-295-9731



Jcl商標を持つマウス・ラットの生産

世界トップクラスの高性能、床置き・卓上、日立なら選べます!

小形超遠心機

エコでスリムな床置きタイプ

himac CS-FNX Series



世界最高速150,000rpm* (CS150FNX)
世界最大遠心加速度1,050,000×g* (CS150FNX)
クラス最静音45dB(A)*
省スペース床置きタイプの小形超遠心機は日立だけ!

特長

- 世界標準の安全規格CEマーキング適合製品
- サンプルのバランスは目分量でOK!
- ロータは全て載せるだけ! (ロータクイックセッティング方式)
- エコ対応省エネモデル



仕様

形名	CS150FNX	CS120FNX	CS100FNX
最高回転速度 (rpm)	150,000	120,000	100,000
最大遠心加速度 (xg)	1,050,000	771,000	571,000
サイズ (W×D×H mm)	440×520×910		
質量 (kg)	105		
標準価格 (税別)	¥5,500,000	¥4,900,000	¥4,300,000

卓上超遠心機

コンパクトなボディに世界トップクラスの性能

himac CS150NX

世界最高速150,000rpm*
世界最大遠心加速度1,050,000×g*
世界最小コンパクトサイズ*
クラス最静音45dB(A)*

特長

- 短い真空待ち時間
- サンプルのバランスは目分量でOK!
- ロータは全て載せるだけ!



仕様

形名	CS150NX
最高回転速度 (rpm)	150,000
最大遠心加速度 (xg)	1,050,000
サイズ (W×D×H mm)	590×582×408
質量 (kg)	97
標準価格 (税別)	¥6,000,000

* (2012年3月現在当社調べによる)



S110AT

S50A

S50ST

S140AT

S58A

S55A2

ロータ仕様

形名	S110AT	S50A	S50ST
最高回転速度 (rpm)	110,000	50,000	50,000
容量 (ml) × 本数 (本)	5.0×8	30.0×6	7.0×4
標準価格 (税別)	¥1,100,000	¥950,000	¥1,500,000

形名	S140AT	S58A	S55A2
最高回転速度 (rpm)	140,000	58,000	55,000
容量 (ml) × 本数 (本)	2.0×10	13.5×8	1.5×12
標準価格 (税別)	¥1,290,000	¥1,000,000	¥750,000

高速冷却遠心機

CR-GⅢシリーズよりもコンパクトなボディにパワフルな性能
使いやすくスタイリッシュ

himac CR22N

最高回転速度22,000rpm



特長

- クラス最大処理容量*6L (新ロータR9A2:クラス初*の1.5Lボトル×4本)
- クラス初*の高解像度カラー液晶タッチパネル
- 家庭の冷蔵庫やエアコンで一般的で、きめ細やかな温度制御が可能なインバータ冷凍機をクラス初*搭載。安定した温度制御とともに省エネ効果も発揮します。
- CEマーキング適合の安全性**



仕様

形名	CR22N
最高回転速度 (rpm)	22,000
最大遠心加速度 (xg)	55,200
サイズ (W×D×H mm)	700×810×915
最大処理容量	1.5L×4本
画面表示	高解像度カラー液晶
操作部	液晶タッチパネル
冷凍機	全密閉型インバータロータリー (冷媒: R410A)
質量 (kg)	290
標準価格 (税別)	¥2,500,000

環境にやさしく、使いやすいスタンダード

himac CR21GⅢ

最高回転速度21,000rpm

himac CR20GⅢ

最高回転速度20,000rpm

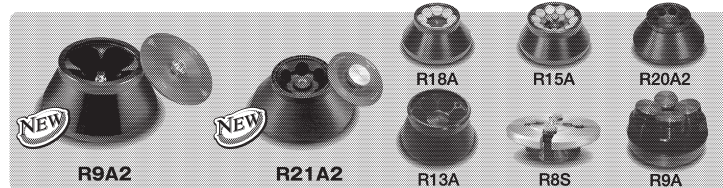
特長

- CEマーキング適合の安全性** (床面へのアンカーボルト固定不要)
- インバランスを正確にキャッチ
- ロータは全て載せるだけ。
- ロータ自動判別機能 (特許)



* (2012年4月現在当社調べによる高速冷却遠心機比)

**CEマーキング適合外となるロータ (旧型ロータ含む) があります。詳細はお問い合わせください。



R9A2



R21A2



R18A



R15A



R20A2



R13A



R8S



R9A

ロータ仕様

形名	R9A2	R21A2	R18A	R15A
最高回転速度 (rpm)	8,500	21,000	18,000	15,000
容量 (ml) × 本数 (本)	1,500×4	30×6	50×8	15/50×10
標準価格 (税別)	¥2,200,000	¥350,000	¥450,000	¥550,000

形名	R20A2	R13A	R8S	R9A
最高回転速度 (rpm)	20,000	13,000	8,000	9,000
容量 (ml) × 本数 (本)	50×8	250×6	50×4	1,000×4
標準価格 (税別)	¥350,000	¥770,000	¥800,000	¥1,200,000

注意: R9A2ロータはCR22N専用です。CR21GⅢやCR20GⅢでは使用できません。

【製造・販売・保守】

日立工機株式会社

URL <http://www.hitachi-koki.co.jp/himac/>

・東日本地区

東京都港区港南二丁目15番1号 品川インターシティA棟21階 TEL.03-5783-0614

・西日本地区

兵庫県西宮市津門大筒町10-20 TEL.0798-23-4125

●この広告に掲載した製品は、改善のための外観または仕様の一部を変更することがあります。 ●印刷の都合上、実際の色と異なる場合があります。 ●標準価格は仕様や構成により異なります。 ●全て税別価格となります。 ●安全のために使用環境、使用条件、据付条件が制限される場合があります。

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 (GLP 対応)
- ◇抗腫瘍試験
- ◇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・営業部

〒604-8423
京都市中京区西ノ京西月町40番地
TEL : 075 (801) 9311
FAX : 075 (801) 7688

□ 東京支社

〒110-0001
東京都台東区上野1丁目4番4号
藤井ビル3F
TEL : 03 (5807) 7161
FAX : 03 (5807) 7163

□ 生物科学センター

〒520-3001
滋賀県栗東市東坂531-1
TEL : 077 (558) 3971
FAX : 077 (558) 3972

詳しくは弊社ホームページをご覧ください

<http://www.kacnet.co.jp>

<http://www.cmic-br..co.jp/>



獣医師募集中

詳しくは当社までお問い合わせください。

顧客満足度No.1を
目指します!

株式会社シミツ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!

株式会社シミツクバイオリサーチセンター

CMIC BIORESEARCH CENTER Co.,Ltd.

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。

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



Local Expertise, Global Strength

Drug Development Solutions - Asia Pacific

Today's challenges require Thoughtful Solutions to effectively navigate your drug development program

In an environment where study timeline goals continually decrease, while study complexity continues to grow, experience has never been a more critical factor in managing drug development risk. Covance offers you the broadest suite of nonclinical services to the highest standards, anywhere in the world.



Global and regional solutions for your standard and complex nonclinical safety assessment study needs

The Asia Pacific region forms a core element in our commitment to help our clients bring miracles of medicine to market sooner.

With over **8,000m²** (90,000 ft²) of laboratory space in our **Shanghai, China facility**, and an integrated global network of facilities, our market leading, comprehensive suite of nonclinical drug development services provides continuity as candidates go through the drug development process.



Proven experience helps drive fast and effective decisions

Comprehensive early drug development expertise helps you achieve your study goals more quickly and with greater confidence.



Benefit from World Class Efficiency

Global Program Management team dedicated 100% to program execution, provides streamlined timelines to IND/CTA. Our Program Management team has helped our clients file **over 150 IND/CTAs in the last 4 years**.

To find out more about how our global investments can benefit you, visit www.covance.com/toxicology

コーヴァンス・ジャパン株式会社

〒104-0031

東京都中央区京橋 3-12-7 京橋山本ビル 7F

TEL 03-5159-3362 FAX 03-5250-1234

COVANCE[®]



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

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

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)

日本毒性病理学会ランチョンセミナー

2013 年 1 月 31 日 (木) 12:00 ~ 13:00

会場：オークラフロンティアホテルつくばアネックス 1 階 昇

演者： 岩田 聖 (ハーランラボラトリーズ スイス)

「マウス長期発癌試験における腫瘍標的臓器を考える」

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/>