

る必要性が指摘された A社のサンプルを分析にかけることが提案され、実施することとなった(長尾委員) なお、機関Bにおける *in vivo* Cometの陽性反応は弱いものであったが、BaPのような多環芳香族炭化水素が示すコメト像と類似していた たたし、*in vivo* Cometでは、BaPのような多環芳香族炭化水素は弱い陽性しか示さない

3) *In vivo* mammalian test systems (中嶋委員)

優性致死(陰性)、マウス(陰性)&ラット(陽性)骨髄/末梢血小核試験、マウス(陽性)&ラット(陰性)肝臓小核試験、ラット肝UDS試験(陰性)、マウスTG試験(陰性、肝臓)およびDNA付加体試験(ラット甲状腺、陰性)の結果が報告された 総合すると、コウシ酸の *in vivo* 遺伝毒性(小核誘発性として)はマウス肝およびラット骨髄にみられ、動物種および標的臓器に相違が認められることから、実際の曝露評価や代謝の検討が必要かもしれない また、いずれの陽性反応も致死用量付近(1000mg/kg以上)であることも重要なポイントとなる可能性がある マウスTG試験では1600mg/kgを28日間投与されているが、なぜ、そのような高用量の投与が可能であったのかに疑問が呈された

4) Carcinogenicity (宇野委員)

コウシ酸による甲状腺腫瘍および肝腫瘍を検討した試験(マウスかん原性試験、p53-KO&野生型マウス反復投与試験、ラット肝二段階発ガン試験、ラット伊東モデル試験、甲状腺腫瘍検討試験)から、マウスおよびラットの甲状腺腫瘍はプロモーション作用によること、肝腫瘍については、プロモーション作用に加え、イニシエーション作用も否定できないことが報告された 甲状腺については、DNA付加体や8-OH-dGの検討がなされ陰性結果を示したが、肝臓の当該データがなく、その必要性が指摘された 8-OH-dGについては葛西委員による検討結果が待たれる また、宇野委員からショウショウハエ試験、RDS試験等の実施を計画していることが紹介された

[会議後備考]

7月中旬に開催されたトキシコロシー学会で、コウシ酸による肝RDSの陽性結果が報告された(2%混餌投与で投与開始約3日目と2週間目の解析で陽性、4週間後では陰性)ことから、宇野委員によるRDSの検索は、混餌と強制経口での比較を加えてみる予定とのこと

5) *In vitro* non mammalian (太田委員)

Ames試験データについて報告され、公表文献のいくつかはデータの信頼性に疑問のあることが述べられ、最終的な評価材料としないことが提案され、了解された さらに、太田委員によって検討されたTA100, TA98, TA102およびWP2 uvrA/pKM101を用いたAmes試験のデータが紹介された(コウシ酸のいずれのロットも代謝活性化の有無にかかわらず陽性)さらに、UVA照射の影響は受けなかったこと、変異のタイプに他の化合物ではあまりみられないA T→C G, G C→C·Gがみられたことが報告された

[会議後備考]

能美委員より、コウシ酸の化学構造からどのようなDNA損傷作用が考えられるのか、化学の立場から検討することの必要性が、また、長尾委員より、Topoisomerase阻害活性の有無を検討することの必要性も提案された

- 3 次回は、8月20日(水)午後2時からインダストリアルホールで開催予定で、大阪市大の福島先生をお招きしてgenotoxic carcinogenの閾値について話をうかがうこととした

文責
森田 健

日本環境変異原学会臨時委員会
「食品および食品添加物等に関する遺伝毒性の検出・評価・解釈」
厚生労働科学研究費
「食品添加物等の遺伝毒性検出の戦略に関する研究」

第6回検討会議事録

2003年8月20日 14:00～17:00
インダストリアルホール 中会議室

参加者 長尾, 祖父尼, 田中, 太田, 宇野, 中嶋, 佐々木, 林, 森田, 福島, 本間 (議事録)
欠席 能美, 葛西, 布柴

- 1 前回 (第5回検討会) 議事録の確認を行った
- 2 2004年2月に開催される国際会議の役割分担について, 林委員長より案が出され, 確認された
 - a) Consultation meeting (2月12, 13日 鎌倉パークホテル)
代表 (林), 庶務 (本間), 会計 (中嶋), 会場 (田中), 資料整備 (宇野) b) International symposium (2月14日 国立がんセンター, 国際交流会館)
代表 (長尾), 庶務 (能美), 会計 (佐々木), 会場 (太田), 資料整備 (森田)
- 1 コウシ酸の遺伝毒性について新しいデータが紹介された
 - a) 浸透圧 (中嶋委員)
20mM までの浸透圧は 1 vol%DMSO 添加と違いが観察されなかった
しかし, 他の *in vitro* 試験では 50mM (5mg/ml) まで試験を行っているため, 高濃度での追加実験の必要性が指摘された また, コウシ酸は水溶性であり, 染色体異常試験や, 遺伝子突然変異試験は生理食塩水を用いて試験しているため, 水溶状態での浸透圧の測定の必要性も指摘された
 - b) 光切断 (田中委員)
コウシ酸を用いた光プラスミド切断生試験と, それに対するラシカルスカベンジャーの影響に関する試験が実施された コウシ酸は光照射による DNA 切断を誘発し, これにはスーパーオキシドおよび過酸化水素の発生が関与していることが示唆された
 - c) TK6/WTK-1 細胞による TK-遺伝子突然変異試験 (本間委員)
TK6, WTK-1 細胞とも用量依存的に突然変異を誘発することか示された
細胞毒性の結果と両細胞の反応性から, コウシ酸は主として, 点突然変異を誘発すること, 細胞周期停止作用があることが指摘された
- 4 日本環境変異原学会要旨
長尾委員が要旨作成を担当し, 後日, メールで各委員に送付することが確認された
- 5 特別講演
大阪市立大学 福島昭治先生より「Genotoxic carcinogen の閾値に関する研究」について講演が行われた
- 6 その他

次回（7回）は9月22日（月）午後2時よりインダストリアルホールで開催することが確認された

文責
本間正充

日本環境変異原学会臨時委員会
「食品および食品添加物等に関する遺伝毒性の検出・評価・解釈」
厚生労働科学研究費
「食品添加物等の遺伝毒性検出の戦略に関する研究」

第7回検討会議事録

2003年9月22日 14:00~17:00
インダストリアルホール 中会議室

参加予定者 長尾, 祖父尼, 太田, 宇野, 中嶋, 佐々木, 林, 森田, 能美,
本間, 田中,
欠席予定者 布柴, 葛西

1 前回議事録確認がなされた

2 新しいデータが紹介された

2.1 コウシ酸溶液の浸透圧と pH に関して中嶋氏より紹介された 前回のデータに関してさらに高濃度での検討が提案され、それに回答するものである DMSO を用いる場合には 28.9mM まで、生理食塩液を溶媒とした場合には 70.4mM まで検討した その結果、DMSO のみで 460mOsm 程度に上昇するが、コウシ酸の添加により浸透圧の上昇は観察されなかった 生理食塩液を用いた場合には 176mM から軽微な上昇が認められたが、70.4mM (10000µg/mL) でも、20%強の上昇にとどまり、浸透圧が原因で染色体異常の誘発が起こったとは考えがたいことが判明した また、pH に関しても DMSO、生理食塩液ともに最高用量で 6.9 および 6.7 と軽度な低下が観察されたが、染色体異常誘発性が認められる低 pH は 6 程度であるので、pH に関しても染色体異常誘発性の原因とは考えがたいことが明らかとなった また、DMSO で浸透圧が上昇する点に関しても議論がなされ、水点降下法で測定したためではないかとの疑義が呈された また、前回のデータと比較して、データの一貫性は高く、再現性の良さが確認された

2.2 E coli WP2 uvr A/pKM101 および E coli WP2/pKM101 を用いた結果が太田氏より報告された S9mix の存否に関わらず用量依存的に復帰変異コロニーが増加したか、WP2 uvr A/pKM101 で特に強い誘発が観察され、酸化的傷害のみでなく、balky adduct を形成している可能性が示唆された

3 VSD (Bench-mark dose) の紹介と実際のデータを用いたデモンストレーションが宇野氏によってなされた VSD (Virtual Safe Dose) と BMD の説明の後、雌マウスを用いた甲状腺発がんのデータを用いて BMD の計算のデモが行われ、数学モデルの違いにより BMD の値に違いが出ることを示された しかし、その差は今回のデータの場合には大きいものではなく、一つの指標となりうるということが話し合われた また、遺伝毒性試験、例えば in vivo 小核試験、データへの適応に関しても議論がなされた 用量反応関係の情報を組み込んだ計算により、陰性対照の値を 10% 上昇させる用量を、リスクアセスメントする場合の指標にしてはどうかとの提案もなされた 今後、本委員会の提案の一つとして検討する必要があろう

4 William G Thilly Have environmental mutagens caused oncomutations in people? Nature

Genetics, 34, 255-259 (2003) が本間氏より紹介された 内容の要約は

人でのがんの発生と環境要因による突然変異との関係のこれまでの常識

- 1 いくつかのがんでは、年齢別のがん死亡率が農村地域よりも都会で増加傾向が見られる
これはおそらく環境汚染によると考えられる また、肺ガンの死亡率は、たばこの消費と強く
関係する
- 2 ある種のがん抑制遺伝子での突然変異は、いくつかのがんの発生に必要である
- 3 我々の生活環境には、人の遺伝子に突然変異を引き起こす可能性のある化学物質があふれ
ている。
- 4 環境化学物質とDNA、もしくはタンパクとの間で起きた化学反応による産物か人の組
織中にDNA アダクトとして多く存在している

これら常識と矛盾する事実

- 1 がんに関係する体細胞突然変異率を考慮した数学的解析からは、これまでの年齢別のがん
死亡率の増加をうまく説明できない
- 2 数多くの環境化学物質がヒトの細胞に点突然変異を起こすことが実験的に示されてい
るが、メチル化剤を除いて、いかなる化学物質も実際の人の生殖細胞や体細胞に対して、それ
に対応するような突然変異を引き起こすことは証明されていない
- 3 環境発がん物質の暴露によって末梢リンパ球の核DNAや、ヒトの肺上皮細胞ミトコンド
リアDNAにはっきりとした突然変異の増加は見られないにも関わらず、それら発がん物質に由来
するDNAアダクトは存在する

新たな仮説

人ががんを引き起こす突然変異のほとんどは内因によるものであり、環境変異原が突然変異を
誘発することにより人のがんを引き起こすという証拠は特別の場合を除きほとんどない (紫外線照
射, がんの化学療法や, 放射線療法) ~~環境要因は突然変異を誘発する~~ というよりもむしろ、突然変
異を持つ細胞を選択すると考えた方が、人での環境発がんの事実をうまく説明できるように思
われる

以上の発表に関して多くの議論がなされ、本委員会のポジションを作り上げる場合にも、
議論の対象として無視できないことを確認したか、あくまでこれは一つの意見であり、こ
の考えを基礎とするものではない ただし、遺伝毒性に関する考え方を単純化しすぎるこ
となく、いろいろな角度から考察を加える必要のあることが議論された

- 5 日本環境変異原学会発表の要旨について長尾先生から説明があり、コウシ酸が食品添加物
として使用禁止になっているのかどうかを確認すること、ヒトに対するコウシ酸の暴

露量を天然に存在する可能性のある「みそ」を対象として考え、化粧品、部外品より食品に主眼をおく、等の意見が出された。また、要旨の文字数についても確認し、長くてもよい場合には本委員会のメンバーを共著者とし、さらに本文も詳細な書き方にする等の工夫をすることとした。字句の修正を含め意見のある場合には長尾先生に直接メールで連絡することとした。

長尾先生から、これまでに得られた新しいデータのまとめ、および今後の検討の方向性に関する、以下のような提案がなされた。

コウシ酸の変異原性について

- 1 コウシ酸の HPLC 分離により、コウシ酸の分画が±S9 で変異原性を示した。コウシ酸以外の分画に変異原性があるか否か現在検討中
- 2 大腸菌変異スペクトル解析により、G→A が 35%、その他は 9-15%、AT 塩基対の変異が 37%と高いのが特徴
- 3 *In vitro* ヒトリンパ芽球様細胞で TK 変異、MN、コメントの誘発
MN については *aneuploidy* であるか否か検討する
TK 変異については塩基交換、LOH, *aneuploidy* による可能性がある
このメカニズムについては特に検討せず、トランスジェニックラットの結果を待つ
トランスジェニックラットにおける変異原性検討する？

Muta mouse 1600 mg/kg x 28days Liver --- negative

Thyroid ---?

MN---Chinese Hamster V 79 Inconclusive

Human keratinocyte—1-8 mg/ml Negative

Human hepatocyte HepG2 1-8 mg/ml Negative

CH V79 Hprt Negative (3 mg/ml)

Mouse lymphoma L5178Y/Hprt Negative (1.4 mg/ml)

CHO CA Positive, (3-6 mg/ml)

CHL CA Positive (1mg by Ishidate) 1.25, 2.5, 5 mg/ml Negative (by Sofuni)

WTK-1 CA by Sasaki

TK6 CA by Sasaki

In vivo genotoxicity の検出法の recommendation を作るのでしょうか？

その場合には、次のことが問題になります

- 1 *In vitro* における MN は *in vivo* 情報のために重要か？
In vivo と動物種を統一する必要は無いか？
- 2 ヒトの細胞を使うことは良い。しかし MN は WTK-1, TK6 の結果か、Human keratinocyte および Hep G2 のと結果と異なる。再現性を検討した上で、理由を検討しなくてよいか？
- 4 Kojic acid は direct mutagen であるか、S9 の存在下でも活性は低下しないので下記に関する問題は無いか、S9 で不活性化されるものは、胃に対する作用を調べる必要がある。変異原性テストで胃で使えるシステムは何かを検討する必要はあるか？
- 5 Threshold for clastogenicity by topoisomerase II inhibitor
Mismatch repair enzymes MSH2/MSH6 inhibitor (Cd) Pms1 inhibitor

以上の提案について議論がなされた。*In vitro* での小核誘発性に関し、数的異常によるものか否かを検討する必要があることが確認され、本間氏が FISH で検討することとした。また、トランスジェニックのデータが非常に重要であることが確認され、中嶋氏が担当することとなった。試験の内容に関してはさらに詰めることとなったか、原則は雌 MutaMouse を用い、3 および 15% の混餌で 4 週間の投与とすることとした。肝臓を解析対象とするか、他の臓器も凍結保存しておき、必要に応じて解析する。また、DNA ンークエンスの解析が

必要な場合には衛研が協力することとした。その他、雌雄を用いるべき、BMDが求められるように多くの用量段階について検討すべき、コメント、肝小核等を組みあわせて行っは、等の意見が出されたか、さらに検討することとした。用量を決定するために、一般毒性のデータを林か中嶋氏に提供することとした。

その他の項目に関しては、時間的な制約のため、次回の委員会で十分時間をかけて話し合うこととした。また、次回の委員会では、長尾先生によるJEMSでの発表に関する詳細な検討を行うこととした。

次回 10月27日(月) 午後2時から インダストリアルホール

日本環境変異原学会臨時委員会
「食品および食品添加物等に関する遺伝毒性の検出・評価・解釈」
厚生労働科学研究費
「食品添加物等の遺伝毒性検出の戦略に関する研究」

第8回検討会議事録

2003年10月22日 14:00～17:00
インダストリアルホール 中会議室

参加者 長尾, 太田, 中嶋, 林, 森田, 本間, 田中, 宇野 (記)
欠席者 葛西, 佐々木, 祖父尼, 能美, 布柴

6 前回議事録が確認された

- 1 新しいデータが紹介された
 - 1.1 コウシ酸の SVK14 および HepG2 を用いた *in vitro* 小核試験の結果に関する祖父尼氏のレビューが紹介された 祖父尼氏が本日欠席のため、次回解説してもらうことになった レビューに記載されている浸透圧の影響につき議論になり、影響がないと断定して良いかをもう少し検討することになった
 - 1.2 コウシ酸のラット肝 RDS 試験およびショウショウバエ試験の中間結果が宇野氏より報告された RDS 試験は強制経口投与と混餌投与で行い、投与3日後に両条件とも最高用量で RDS が誘発された 肝の重量変化および病理組織変化はなかった 体重当たり投与量は混餌投与の方で多かったが、体重増加量は強制経口投与で強く抑制された 甲状腺重量は強制経口投与より混餌投与で著しく増加した ショウショウバエの DNA 修復および翅毛スポット試験は陰性であった
- 2 コウシ酸の MutaTM Mouse を用いた遺伝子突然試験の計画概要が中嶋氏によって紹介され、内容が協議された 投与用量は1, 2 および3%とすること、摘出器官に甲状腺を加えることになった
- 3 Kerry L Dearfield et al Genotoxicity risk assessment a proposed classification strategy Mutation Res, 521, 121-135 (2002) の JETOC による日本語の解説記事が森田氏より紹介された
- 4 日本環境変異原学会第32回大会のシンポジウムにおける報告案が長尾氏によって紹介され、内容が協議された 引き続きメール上で意見交換し、次回に再度内容を協議することになった
- 5 来年2月の国際会議/シンポジウムと position paper につき林氏より説明された 12月までに国際会議で何を議論したいのかをまとめ、2月までに position paper のアウトラインを作成し、国際会議ではその方向性で今後進めて良いかを討論したいとのことであった また、(財)日本食品化学研究振興財団よりシンポジウムの助成が決定したことが報告された
- 6 厚生労働科学研究費補助金が入金されたことが林氏より報告された 分担研究者の方

は入金を確認頂きたい

次回日程は後日調整（候補 11月10日（月）、11月17日の週のいずれか）

日本環境変異原学会臨時委員会
「食品および食品添加物等に関する遺伝毒性の検出・評価・解釈」
厚生労働科学研究費
「食品添加物等の遺伝毒性検出の戦略に関する研究」

第9回検討会議事録

2003年11月20日 14:00～17:20
インダストリアルホール 4F 会議室

参加者 長尾, 祖父尼, 田中, 太田, 宇野, 中嶋, 林, 能美, 森田 (議事録)
欠席 葛西, 布柴, 本間, 佐々木

- 1 来年度の厚生労働科学研究費の申請書類案が林委員長より提示され, 分担研究者関連の記載の確認を行った 訂正・コメントなどあれば, 林委員長までメールで連絡することとした
- 2 コウシ酸の遺伝毒性について, 長尾委員より新しいデータが紹介された 3ロットのコウシ酸の各 HPLC 分画について復帰突然変異誘発能を検討したところ, ロット間に相違は認められず, また NMR 分析により活性物質はコウシ酸であることが確認された このことから, 既報告の相反する *in vitro* 試験結果は, 各ロットに含有されている可能性のある不純物によるものではないことか明らかとなった
- 3 日本環境変異原学会発表スライドの改訂版が長尾委員より提示された スライドは若干の変更がかけられた後, 最終版とされる予定である 今後, リスク評価に関し必要とされるであろう議論内容について, 以下の項目が上げられた
閾値以下のものであれば, いくら加えても問題はないのか?
 - ・ 化学物質の使用をやめた場合のリスクは?
 - ・ 何に使うかによって許容できるレベルは異なるのでは?
 - ・ 発癌性のリスクには閾値があっても, 遺伝毒性のリスクとしてはどうか?
- 4 2004年2月に開催される国際会議のシンポジウムは, 主催 JEMS および厚生労働科学研究, 後援 三栄源財団 (日本食品化学研究振興財団に名称変更) で開催されることだが, 林委員長より報告された また, 国際会議への外国人参加者リスト (11月20日現在) が配布された Consultation meeting ならびに International symposium の打ち合わせを, 下記2グループに分かれて行った ([]は不在)
 - a) Consultation meeting (2月12, 13日 鎌倉パークホテル)
代表 (林), [庶務(本間)], 会計 (中嶋), 会場 (田中), 資料整備 (宇野)
 - b) International symposium (2月14日 国立がんセンター, 国際交流会館)
代表 (長尾), 庶務 (祖父尼), [会計(佐々木)], 会場 (太田), 資料整備 (森田), (能美)
- 5 その他
次回 (10回) は12月25日を予定

文責
森田 健

日本環境変異原学会臨時委員会
「食品および食品添加物等に関する遺伝毒性の検出・評価・解釈」
厚生労働科学研究費
「食品添加物等の遺伝毒性検出の戦略に関する研究」

第 10 回検討会議事録

2003 年 12 月 25 日 14 00～17 00
インダストリアルホール 4F 会議室

参加者 長尾, 祖父尼, 田中, 太田, 宇野, 中嶋, 林 (議事録), 能美, 森田, 本間, 佐々木
欠 席 葛西, 布柴

- 1 中嶋委員から, コウシ酸の TG 試験 (1,2,3%混餌) の進捗状況について説明がなされた
12 月 19 日に解剖が終わり, 必要な組織 (肝臓, 胃, 結腸, 骨髄, 甲状腺) を凍結した
肝臓の一部を DNA の酸化障害 (8-OH-dG) を検討するため葛西委員に送付した マ
クロでは全処理群で甲状腺の肥大, および最高用量群で子宮の肥大 (5 倍程度) が観察
された また, 最高投与群において軽度な体重増加抑制が認められたが, その他特記
すべき事項はない また, 最終日には末梢血の AO 超生体染色による小核試験のための
標本作製したので, 順次解析予定である さらに, 肝臓の一部を用いてコメント試
験を実施するための準備を進めている 次回の検討会 (1 月 16 日) までには, 小核試
験とコメント試験の結果が得られるものと考えている TG の突然変異の結果に関して
は, 来年 2 月の Consultation Meeting までには何とか間に合わせたい
- 2 森田委員から, Commission of the European Communities の Regulation of the European
Parliament and of the Council, concerning the Registration, Evaluation, Authorisation and
Restrictions of Chemicals (REACH) に関する紹介がなされた 一般化学物質が対象となる
CMR effects (carcinogenicity, mutagenicity and toxicity for reproduction) を中心に考慮し, 危
険物を規制しようとするもの Tonage により要求される試験項目が変わる点, 陰性の
場合 *in vitro* の試験がなくても受け入れ可能な *in vivo* 試験結果があれば, それでの評価
も行う点等が新しい点か 全体で 100 頁を超えるドキュメントであるが, 希望者は森
田委員から入手可能とのこと
- 3 来年 2 月の会議およびシンポジウムに関し, 担当グループに分かれて細かい詰めを行
った

3 1 Consultation meeting in Kamakura

全体の進行は林が担当する Consultation の進行は Dr Kirkland に任せる 会場は, コン
サルタントがコの字状のテーブルに座り, その周りを委員が取り囲むような形を予定
全体の方針としては, 招待したコンサルタントの意見をじっくり聴くことを主体とし,
両日とも最後の 1 時間は日本側委員を含めた discussion を行う

大まかな schedule は以下の通り

2 月 12 日

8 30-11 30

Introduction (15-20 min)

Hayashi

Presentation on KA evaluation for food additive (1 h) Nagao

Coffee break

New data on KA (1 h) Uno
Q&A and discussion All

Lunch 11 30 – 13 30 (近くのレストランまで移動)

13 30-17 30

進行は Dr Kirkland に任せる 午後の最初にコンサルタントにお願いして KA の評価を彼らなりに行ってもらい, position paper (PP)の議論のためのバックグラントとしてもらう その後, PP 重要と考えられるポイントについて方向付けをお願いする なお, 重要ポイントの選定に当たっては, 林が 1 月に Dr Kirkland と会って直につめる 希望項目をそれまでに林までメールにて連絡されたい 現時点においては, threshold, genotoxic vs nongenotoxic carcinogenesis, carcinogenicity vs heritable effects, 等が候補に挙かった

なお, 最後の 1 時間は日本側の委員も含めて全体で discussion を行う
5 時を目安に終了, 遅くとも 5 時半には終わる

18 00-

ホテル内で mixer

2 月 13 日

8 30-12 00 (Coffee break を含む)

引き続き PP に対するコンサルテーションをお願いする

Lunch (ホテル内)

13 00-14 30

日本側の委員も含めて全体で discussion と共に全体のまとめを行う

15 00-

バスにて銀座東急ホテルに移動 可能であれば寄り道をして鎌倉観光

3 2 International Symposium

急を要する事項として講演者の題目と抄録を至急集める(1月10日を締め切りとする)
佐々木委員が担当し, 100 部作成する 表紙に関してはポスターを参考に祖父尼委員が作成

当日の開始は 9 30 とし, 時間割はプログラムが決まった時点で森田委員が作成

看板, プロシクター等は長尾委員が財団と交渉

受付は佐々木委員が担当する

講演のスライド原稿は, 鎌倉会議の間に各講演者より入手しておき, PC に事前に install しておく 担当は太田委員

講演者, 来賓, 組織員には弁当を用意し, 別室で昼食を取る

懇親会は東武ホテルで行い, 進行は祖父尼委員が担当する

なお, 参加者数を把握するため日本環境変異原学会会員は登録制とし, 1 月末日までに佐々木委員まで登録してもらう

ポスターに関しては B3 サイズとし, 200 枚印刷する

名札ホルダー、カード、領収書、ゴム印等を国立衛研で購入し、佐々木委員に送付する

座長に関しては、プログラムが決定してから森田委員を中心に選定する
通訳を丸山、山之内さんをお願いする（森田、長尾委員か連絡）

- 4 本委員会、研究班の成果の発表形態等について、JEMS の名前を使う場合には会員のコンセンサスを取り付ける必要がある等の議論かなされたが、結論を得るには至らなかった

- 5 その他

次回（第11回）は1月16日

文責
林 真

日本環境変異原学会臨時委員会
「食品および食品添加物等に関する遺伝毒性の検出・評価・解釈」
厚生労働科学研究費
「食品添加物等の遺伝毒性検出の戦略に関する研究」

第 11 回検討会議事録

2004 年 1 月 16 日 14 00～17 00
インダストリアルホール 1F 中会議室

参加者 長尾, 祖父尼, 田中, 宇野, 中嶋, 林 (議事録), 森田, 本間, 葛西, 佐々木
欠席 太田, 能美, 布柴

葛西からコウシ酸を投与した TG マウス肝における 8OHdG の測定結果の説明があった

以前の実験では, 2%コウシ酸を 2 週間投与したラットの甲状腺で明らかな減少がみられている (コウシ酸は抗酸化物質だから不思議ではない?) TG マウス肝 (1 群 5 匹) では 3%, 4 週間の投与で有意に増加した (今回の実験)

尿のデータがあれば, 望ましいが・・・ Ames, 染色体, 小核, ショウショウハエなどいろいろな系あるが, その中に 8OHdG も入れればと思って, データ蓄積を試みたい (葛西)

尿中 8OHdG と DNA 酸化の関係は? (林)

尿中 8OHdG (測定の労力がかからない) の起源はヌクレオチドプールからで, DNA 酸化物質ではヌクレオチドプールでも酸化を起こすであろう 尿中 8OHdG と DNA 中の酸化物質の間の関係を, そのものズハリの関係として証明した例はないか, 両方パラレルであろう 組織の 8OHdG の測定でもヌクレオチドプールからのものもあるであろう (葛西)

エラーハーカー大きい (1 匹が引っ張っている?) 3%群の個別データは? (林) それほど大きなハラツキはない (葛西)

この反応の強さは? (林)

3%という用量は, ヘテロサイクリンクアミンの場合の 1000 倍程度の用量だから, コウシ酸の場合はそれほど強い反応とは言えない? (長尾)

たいたいあの程度のもの, 倍になればかなりはっきり出たと言える KBrO₃ では 4, 5 倍まで上がる 8OHdG のデータは, コメントアノセイ + FPG (大腸菌 OGG1, これを過剰にいれると 8OHdH のところで切れる) のデータと食い違ってこなくなっている (葛西)

TG の測定の進捗状況は, DNA 抽出まで終了した 同動物でのコメントアノセイ (28 日投与の 3 日後の測定) と末梢血 MN は陰性, 陽性対照の DMBA では末梢血 MN の頻度は 7-8/2000 で RET の頻度が高い傾向にあった (中島)

コウシ酸は抗酸化物質なのに今回 8OHdG が上がった理由は? (宇野)

アスコルヒン酸でも高用量だと上がる ラシカルができています? コウシ酸の構造から考えると, ラシカルかできている可能性がある コウシ酸そのものと言うより, 二次的な酸化ストレスによって 8OHdG が上がったということもある いずれにせよ, 何らかの酸化損傷が発生している可能性は高い (葛西)

活性基は? (長尾)

キノンの構造 (森田)

キノン以外に, 2 つか 3 つの活性基があったはず (林)

3%のところの有意差をどのように考える？ (林)

酸化ストレスによって有意になったか、癌かできたことによって有意になった、ということと同じ議論が必要では？ (森田)

activated Ras にそのような酸化ストレスを引き起こす活性がある (長尾)

癌患者の 8OHdG は高い、高いから癌になったか、癌になったから高いか？ (葛西)

コウシ酸による発癌は 20 ヶ月程度でみられている だから、今回の 28 日目の後では下がるかもしれない、その後で上がる？ (祖父尼)

ラットでは甲状腺は下がっているが、マウスでも下がるのか (長尾, 宇野)

甲状腺も採材してあるが、量が少ない、TG か 8OHdG の測定かの選択になる (中島)

ラットの甲状腺での 7 個使ったから、マウスでは測定が難しい？ (葛西)

いずれにせよ、高用量ではどの系でも何か起こっているらしい (祖父尼)

肝での genotoxicity を否定するためには、TG のデータが重要、肝小核ポシの結果が spindle poison としての作用によっている可能性は？ (長尾)

In vitro では spindle poison の可能性はない (林)

シンポジウムの準備会

予算的には何とかなるが、現在、寄付を集めている 委員各位で寄付をもらえそうなところの心当たりがあれば、趣意書と申込書をお願いしたい (林)

今日は、14 日のプログラムを大体固めてしまいたい (林)

(以下は森田から提示されたプログラム案を基にした検討)

アブストラクトにつけるスピーカーの名前とタイトルは省略形でもよい 海外の人は Family name たけをフルで、First と Middle は頭文字だけ 抄録集の後ろにフルの名前が入っているスピーカーリストをつければよい (長尾, 森田)

Break と Lunch の時間配分は？ Chair の配分と人選は？ Opening remarks と Concluding remarks はそれぞれ長尾, 祖父尼でいいか？ (森田)

最後のほうの演者が全体的な話ができればまとまりがつく (祖父尼)

そのような全体的な話を Dr Blaky に期待している (林)

14 日のシンポジウムの席上、Karkland に鎌倉での会議の話をしてもらうことにしたいが、その場合に時間配分はこれで OK かどうか、来週、渡英して会ったときに詰めてきたい そうすると、Karkland を最初にする？ あるいは、林が全体的な話をして、その後で Karkland か？ (林)

日本、UK のレギュレーションの話の次に Health Canada の話でも OK？ (長尾) 午前中には 4 題しか入らないので、中垣も含めた順番を考える Karkland も Mueller の不純物の話なので、両方の話が離れない方がいい Karkland はその日に帰国するため、午前中に終わる必要がある そうすると、Mueller を前に持ってくる？ (森田)

試験系の話の 3 演題を午前中に持ってくるという手もある (祖父尼)

Health Canada の Blakey の内容が未定か、現在のプログラム案を送って、プログラムに沿った内容で口演を、と頼む (林)

スピーカーには予めプログラムと抄録を送って、内容が重複しないように留意してもらう Mueller の不純物の話と Karkland の不純物の話は違う？ (長尾) 二人の間で棲み分け

かてきているらしい Karkland には、鎌倉の会議の話を中心にしてもらうように依頼する
(林)

Chair は誰にするか？ 総合討論か 45 分だが、lunch と break とかを短縮して、総合討論を
延長する？ (森田)

延びるかもしれないので、このままでいいと思う 抄録集には、がんセンターと懇親会の
両方の場所が入った地図を入れる (林)

今までの議論を整理したい Opening は長尾で、時間はどの程度必要か？ (林) 3 分で
OK (長尾)

口演順は、林, Karkland, 中垣, Benford, Blakey まで午前中として、Lunch を遅らせる (12 20)
そうすると、午前中はレギュレーション関係でそろることになる 午後は Galloway, Aardema,
Thybaud, Surth, Mueller の順でどうか (林, 森田)

Chair は日本と海外の人で組むか、日本人だけでいいか？ (林)

聴衆は一般の日本人なので、スピーカー紹介などは日本語になる？ 日本と海外の人が組
むのであれば、3 組でいい？ 総合討論では Chair はいらない？ 全体に延びれば、総合討
論は潰れる可能性もある 時間が予定通りでいけば、最後の Chair かそのまま総合討論の
Chair をやる？ (祖父尼)

そこは祖父尼の役になるのでは？ (長尾)

総合討論では、パネルの必要はないと思う 45 分とか 1 時間あればパネルでもいいか、時
間か押してくる可能性もある (林)

総合討論を盛り上げるために、3, 4, 5 のレギュレーションと女性 3 人のスピーカーを入れ
替えるか？ (林)

そうすれば、中垣の総合討論に参加せざるを得ない (森田)

そうすると、午後は Surth と Mueller で、その後に break になる？ 午前中の 1 人を午後
移動するとバランスかとれるのではないか (祖父尼)

Aardema を午後 1 番にするか？ (林)

日本人のスピーカーも英語口演にする？ (林)

英語のほうがいいと思うか・・・ (祖父尼)

最後の討論の関係もあって、英語口演にせざるを得ない？ その場合でも、総合討論を盛
り上げるために、日本語の討論のサクラか必要 (本間)

それでは、口演は全部英語にするということを決定する (林)

口演の順は、林, Karkland, Galloway, Thybaud で、ここで Lunch 午後は Aardema, Surh,
Muller, 中垣, Benford, Blakey の順とする (林)

スピーカーを Chair にするというやり方もある (中島)

Chair も海外の人と日本人の組でやることにして、人選は？ (林)

日本人の演者かいないセッションもあるので、その場合はスピーカーとは独立に日本人の
Chair 選ぶ必要かある (祖父尼)

委員で手分けして、抄録の翻訳を作る それをもとに Chair が簡単に内容を日本語で紹介す
るということを提案したい そうすれば、Chair は日本人だけで OK になる (林)

1 人か 2 演題担当すれば、5 人選べばよい (長尾)

委員から選ぶと、宇野 (1, 2), 本間 (3, 4), 田中 (5, 6), 太田 (7, 8), 森田 (9, 10)

Concluding remarks は Chair なしで祖父尼が 1 人で担当 (林)

抄録の翻訳は Chair がやることでどうか そのほうが、よく内容を把握できる (祖父尼)

当日は、終わり次第、懇親会会場に移動 (林)

1 月末までに原稿ができれば、サイエンティストで印刷が間に合う (林, 確認)

日本語訳は祖父尼と長尾に送って、祖父尼と長尾で全体の体裁などを整える 2 月 3 日に祖
父尼から大野に原稿を送るため、最終原稿は祖父尼のところで集める (祖父尼)

抄録の体裁は？ Director などの職名は必要？ 書いてきた人の職名を削るのはよくない

メールアドレスはスピーカーリストをつけるため、抄録からは削除する（長尾）
抄録集に委員会の委員リストも必要 各自が英語のアドレスを長尾まで送る（林）

当日の委員の出欠を確認（林）

長尾 鎌倉の泊まりはペンディングにしたい
祖父尼 14日はOK, 12日かため 東京の宿泊は不要
田中 全部出席
太田 東京だけ
宇野 11, 12日は宿泊予定, 13日は帰宅
中島 全部出席
能美 不在
森田 3泊
本間 全部出席
佐々木 12日は難しい 来週までペンディング
葛西 14日は出席
布柴 ?

招待する人は? 招待状は? 福島先生は日程的に無理, 本省の人は14日は可能かも知れない? 名譽会員には招待状を出す? 名譽会員で遠い人は(黒田, 近藤)に旅費付きで招待するかどうかは, 寄付の集まり次第 寄付をもらったところには招待状を出す 鎌倉の方はクローズドなので, 委員のメンバーだけにする (林)

日添協にはポスター20枚を送る ポスター内容で間違っているところを塗りつぶして送る
所要経費は5万前後 発送日はこれから確認する 送り先の追加は? リスクのシンポジウムの参加者リストを木苗が持っているのだから, その中から興味ありそうな人をピンクアップ ポスターを送るときに, 参加申し込みをして欲しい旨の紙を入れる(祖父尼)

文責
佐々木 有

日本環境変異原学会臨時委員会
「食品および食品添加物等に関する遺伝毒性の検出・評価・解釈」
厚生労働科学研究費
「食品添加物等の遺伝毒性検出の戦略に関する研究」

第 12 回拡大検討会議事録

I 第 12 回拡大検討会議 (その 1) クロースト班会議

日 付 2004 年 02 月 12～13 日
場 所 鎌倉パークホテル

参加者 国内委員，林，長尾，祖父尼，田中，宇野，中嶋，本間，佐々木 (13 日のみ)，森田
海外コンサルタント，M J Aardema, D Benford, D H Blakey, S M Galloway, D Kirkland, Y-J Surh, V Thybaud, D Tweats, L Muller
欠 席 葛西，布柴，能美，太田

- 1 第 12 回拡大検討会議を海外の識者を招いてのコンサルテーション会議として開催するにあたり，本検討会の背景および目的が林委員長より説明された。最終目標は，3 年間 (2003 年 4 月～2006 年 3 月) の研究期間の最後まで残り 2 年で，食品関連物質の遺伝毒性に関するリスク評価のストラテジーを構築し，提言をまとめることにある。
- 2 長尾委員より，食品添加物としてのコウシ酸の遺伝毒性リスク評価について説明がなされた (添付資料 1)。すなわち，日本における食品添加物の規制の歴史，今回のコウシ酸規制の理由，薬事食品審議委員会で検討されたコウシ酸の発癌性ならびに遺伝毒性データの要約，それらを基にした HERP 法や BMD 法による発癌リスクの計算結果などが報告され，極めて弱い反応しか示さない化合物の評価をどう扱うかについて問題提起を行った。
- 3 宇野委員より，コウシ酸の遺伝毒性に関する新規データについて説明がなされた (添付資料 2)。すなわち，本検討会がこの 1 年間で実施した 11 種の試験/検討の結果 (下記) を，データをふまえて報告した。

試験/検討	結果
1 培養液の浸透圧および pH	影響なし
2 Ames 試験における不純物の影響	コウシ酸に起因
3 Ames 試験 (再確認など)	陽性
4 光プラスミド試験	陽性
5 TK6&WTK-1 細胞による突然変異&小核試験	陽性
6 TK6&WTK-1 細胞によるコメント試験	陽性
7 TK6 細胞による光遺伝毒性試験	陽性
8 ショウノウハエ翅毛スポット試験	陰性
9 雌 MutaMouse による肝臓遺伝子変異	陰性
10 雌 MutaMouse による肝臓の 8-OH-dG 形成	陽性
11 ラット肝臓 RDS 試験	陽性

- 4 海外コンサルタントを中心として、コウシ酸の発癌性および遺伝毒性データが検証された。一連の議論は「コウシ酸はヒトにも該当する遺伝毒性発癌物質かどうか？」という点に集約された。その結果、結論を導くには現時点ではデータ間のギャップが多く、そのギャップを埋める必要があるとされた。相反する結果が得られた場合には、一般的にはなんらかのクライテリアでその重み付けをすることがあり、その中では GLP 試験か非 GLP 試験なのか、発表された論文の掲載誌は何か、試験のデザインは適切か、著者の評判はどうか、といった点も考慮されることかあるとされた。コウシ酸については、肝発癌性が遺伝毒性メカニズムに起因するものか否かを評価するには、いくつかの不明点、疑問点あるいは問題点すなわちギャップが存在することか指摘された。例えば、発癌性データに関しては、肝腫瘍の質（良性か悪性か）や用いたコウシ酸の質（かび毒の含有率など）が明らかでないこと、ノックアウトマウスを用いた検討では群あたりの匹数が少ないことなど、また遺伝毒性データに関しては、肝臓小核ではマウス陽性/ラット陰性、骨髄/末梢血小核ではラット陽性/マウス陰性のようには明確に一致していない点のあること、コメント試験では tail moment の測定が必要とされたことなどである。これらの事項を解決するには、スライト標本の再評価や ADME データ収集を含む追加確認試験の実施などが必要と提言された（添付資料 3）

II 第 12 回拡大検討会議（その 2） 国際シンポジウム

日 付 2004 年 02 月 14 日

場 所 国際研究交流会館 3 階国際会議場（国立がんセンター構内）

参加者 国内委員、林、長尾、祖父尼、田中、宇野、中嶋、本間、佐々木、葛西、太田、森田

海外コンサルタント、M J Aardema, D Benford, D H Blakey, S M Galloway, D Kirkland, Y-J Surh, V Thybaud, L Muller

欠 席 布柴、能美

- 1 第 12 回拡大検討会議（その 2）を、「食品関連物質等のリスクアセスメント戦略」と題した国際シンポジウムとして開催するにあたり、まず、その趣旨が長尾委員より説明された。以下、海外シンポジスト 7 名および国内シンポジスト 2 名による発表ならびに総合討論が行われた（添付資料 4 プログラム）
- 2 その演題の中で、第 12 回拡大検討会議（その 1）をふまえ、海外コンサルタントの提言が報告された（添付資料 3）
- 3 本シンポジウムの開催により、遺伝毒性を中心とした食品関連化学物質の安全性に関心のある多くの参加者に、遺伝毒性発癌物質であっても閾値を設定できる可能性のあることか認識されたものと思われる。今後は、どのようなケースに閾値の設定が可能なのか、また、その設定はどのように行うのか適切で人々に受け入れられるものなのかを明らかにする必要がある

追加議事録資料

本議事録の案に対し寄せられたコメント

第 12 回拡大検討会議事録 追加議事録資料

当該議事録案に関し、以下のコメントをいただきました 追加議事録資料として、本議事録に添付いたします

中嶋先生

別添資料 4 を見れば講演タイトルはわかると思いますが、議事録本文に中垣様の行政判断のよりどころあるいは研究者への要望（新しい試験法の解釈等）について触れなくて良いですか？

長尾先生

添付資料 1 は実際に使ったものは細かい点で訂正がかなり入っています 後でお送りします（対応済み）

海外コンサルタントの意見

マウス肝発がんに関しては、論文に病理組織の写真が無いことか問題と書いた方が良いと思います Hepatoma と診断してあるので、文面上は悪性（hepatocellular carcinoma の）incidence が報告されていることになります 組織の写真がないので正しく診断されているか否かが不明だと言うことだと私は理解いたしました また、対照群雄の incidence が Hepatoma の incidence としては高すぎるという問題点が述べられた 規制には腫瘍性がある in vivo 遺伝毒性があれば使用禁止ですから、Carcinoma か Adenoma かは規制に関しては何ら影響を与えませんが、雄では実は Carcinoma が増えている可能性もあり、データの質が問われます

マウス、ラットの肝および骨髄で遺伝毒性が一致しないのは、用いた動物が Adult か young かが異なるためだと思われる young rat の代謝が Adult mouse のそれと異なる可能性が述べられた Recommendation として「Adult ラットの骨髄で MN を調べる」となっているが、鎌倉で Tweats がまとめた時は Adult ラットの肝臓で MN を調べるとなっていました どういう経緯があってこのような変更がなされたのか不可解です 骨髄は young rat で陽性ですから、young mouse で行なうべきだと思います その結果 Species difference がある場合は、代謝の違いを検討すればはっきりさせることが出来るという結論でした 重要な点は、判断は安全 side に立ってなされるべきだと言っていたことです

サルモネラで陽性だから、in vivo の遺伝毒性を特に否定する材料はないという話であったと思います（Benford がンボンウムで KA について説明したことは間違いです この点私は Galloway と話して確認しました）

Recommendation

ラットの長期発がん実験 マウス p53 発がん実験 マウスポストラヘル

p53 遺伝毒性 negative, ポストラヘル negative のときは遺伝毒性 negative ということが propose されました

マウス p53 で遺伝毒性 negative と出るとします ポストラヘルでも negative とします しかし腫瘍性は確認されたとします マウス Adult, ラット Adult で MN が確認されたとします この場合結論はどうするのでしょうか？ポストラヘルは遺伝毒性の初期段階、MN は最