

200500075A (1/2)

厚生労働科学研究費補助金

国際医学協力研究事業

環境中の発がん及び発がん抑制要因の検索とその作用機構の解明に関する研究

(H17 - 国医 - 2)

平成 17 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 若林 敬二

平成 18 (2006) 年 4 月

目次

I. 総括研究報告		
環境中の発がん及び発がん抑制要因の検索と その作用機構の解明に関する研究 若林敬二	—————	1
II. 分担研究報告		
1. 新規変異原・がん原物質の検索 若林敬二	—————	12
2. DNA変異を指標にした発がん及び発がん抑制要因 の検索と作用機構の解明に関する研究 能美健彦	—————	14
3. 脂質過酸化により生成する変異原の同定 葛西 宏	—————	19
4. 大腸発がん感受性および抵抗性要因の解明 中釜 斉	—————	21
5. 酸化的DNA傷害修復遺伝子MYHの新規多型と 胃がん症例対照研究における評価 梶村 春彦	—————	24
6. 沖縄産薬草のNO合成酵素に及ぼす影響 安仁屋洋子	—————	25
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	—————	28
IV. 研究成果の刊行物・別刷	—————	別冊にて

厚生労働科学研究費補助金（国際医学協力研究事業）
総括研究報告書
環境中の発がん及び発がん抑制要因の検索とその作用機構の解明に関する研究
主任研究者 若林 敬二 国立がんセンター研究所副所長

研究要旨

本研究は、環境中の変異原や発がん物質を明らかにすると共にヒトのがん発生要因及び感受性要因を総合的に把握し、最終的にはがんの第一次予防推進の為の基礎的研究成果をあげることを目的とする。河川水中から PBTA 化合物の非塩素化誘導体(non-ClPBTA-2, -3, -4 及び-7)を検出した。これらのうち non-ClPBTA-3 及び-7 はサルモネラ菌に対して強い変異原活性を示すことがわかった。リノール酸、リノレン酸、又はサラダ油とヘミンによる脂質過酸化モデル反応物中より 4-oxo-2-hexenal (4-OHE)を同定する事が出来た。4-OHE は焼き魚の中から GC/MS によって多量に検出され、食品の保存、調理中に生じる可能性が示唆された。3 種類の損傷乗り越え型 DNA ポリメラーゼの遺伝子を系統的に破壊したサルモネラ菌株を用いて解析したところ、環境因子の作る損傷の違いにより、異なった DNA ポリメラーゼが誤りがち乗り越え(変異促進)に関与することが予想された。PhIP+DSS 腸炎により誘発される大腸発がんにおいて、A/J 系統は高感受性、C57BL/6J 系統は中等度の感受性を示した。一方、SM/J, MSM/Ms 系統は抵抗性を示すことが分かった。C57BL/6J 系統を用いた検討により、PhIP+DSS 誘発大腸がんモデルでは、大腸がんの誘発性が、DSS による炎症の程度及び PhIP 投与量依存的に増加することが分かった。MYH は、酸化的 DNA 障害修復能を担当する遺伝子で、APC 遺伝子に変異のない大腸ポリポーシスの原因のひとつとして知られている。MYH 多型のアジア人における消化管腫瘍感受性への影響を評価することを目的に、大腸がん症例対照を用い、MYH の多型を 10 数種同定し、ハプロタイプ構築をおこなった。抗酸化作用を有するベニバナポリゴクは GalN/LPS による肝障害、酸化ストレスを抑制した。本薬草による肝障害抑制作用には、TNF-alpha 抑制、iNOS 発現抑制、アポトーシス抑制が関与することが示された。

分担研究者

若林敬二	国立がんセンター研究所	副所長
能美健彦	国立医薬品食品衛生研究所	室長
葛西 宏	産業医科大学	教授
中釜 斉	国立がんセンター研究所	部長
楢村春彦	浜松医科大学	教授
安仁屋洋子	琉球大学大学院医学研究科	教授

A. 研究目的

がんは遺伝子の病気であり、その発生には多くの遺伝子変化が関与している。がん発生の原因となる遺伝子変化を引き起こすものには多くの外的及び内的要因があり、中でも喫煙、食事性要因及び感染症が大きな役割を果たしていることが指摘されている。これらの要因に加えて、遺伝的背景も発がんに多大な影響を及ぼしている。しかしながら、どのような変異原・がん原物質がヒトのがん関連遺伝子の変異や発現異常に関与しているかについてはほとんど判っていない。又、発がん感受性因子も十分には解明されていない。本研究においては、ヒトのがん発生要因及びがん感受性要因を総合的に把握し、最終的にはヒトのがんの第一次予防推進のための基礎的研究成果をあげることを目的とする。

B. 研究方法

(1) 新規変異原・がん原物質の検索

浜松市内を流れる芳川河川中の変異原物質をブルーレーヨンを用いて吸着、濃縮した。吸着成分をメタノール/アンモニアで溶出し、減圧蒸溜乾固した後、各種カラムを用いたクロマトグラフィーにより変異原物質を分離・精製した。単離した変異原物質の構造の同定は LC-MS 解析及び別途合成により行った。また、これら河川水中の新規変異原物質の突然変異原性についても検討した。

(2) 脂質過酸化により生成する変異原の同定

リノール酸、リノレン酸、サラダ油の 3 種類の油をそれぞれ、ヘミン及び dG と混合し、空気中で室温にて振盪により反応させ、その反応液を逆相カラムを用いた高速液体クロマトグラフィーによって分析した。そして、これらの酸化反応によって生成した脂質過酸化産物・dG 付加体(アダクト)を採取し、NMR、紫外線吸収スペクトル、質量分析によって構造解析を行った。構造は種々の合成品とのスペクトルデータの比較および関連化合物の結晶の X 線解析により確定した。これらの dG に付加している物質の 1 つである 4-OHE について、サルモネラ菌 TA100, TA104 を使い変異原性試験(Ames 試験)を S9 無しの条件下で行った。

食品中の 4-OHE の検出は酢酸エチル抽出物の GCMS により行った。

(3) DNA 変異を指標にした発がん及び発がん抑制要因の検索と作用機構の解明に関する研究

環境発がん物質のスクリーニングに多用される *Salmonella typhimurium* (以下サルモネラと略) TA1538 株の持つ 3 種類の損傷乗り越え型 DNA ポリメラーゼ (DNA polymerase II, IV, V、以下 Pol II, Pol IV, Pol V と略) の遺伝子を系統的に破壊し、遺伝子破壊株の 26 種類の変異原に対する感受性を比較することで、各 DNA ポリメラーゼの損傷乗り越えにおける役割を明らかにした。Pol II 遺伝子のみ、Pol IV 遺伝子のみ、Pol V 遺伝子のみを破壊した株と、Pol II、Pol IV、Pol V 遺伝子の全てを破壊した株を作製し、その変異原に対する感受性を TA1538 株と比較した。多環芳香族炭化水素など変異原性発現に代謝活性化を必要とする化合物についてはラット肝 S9 の存在下で変異原性を調べた。

(4) 大腸発がん感受性および抵抗性要因の解明

PhIP は単独投与では通常マウスには大腸がんを誘発しないが、デキストラン硫酸ナトリウム塩 (DSS) の飲水投与による腸炎の併発により、マウスにも高率に大腸がんを誘発できる。最近、国立遺伝学研究所において、MSM/Ms 系統の各染色体を C57BL/6J 系統に導入したコンソミック系統が樹立された。そこで、MSM/Ms 系統及び C57BL/6J 系統間で PhIP+ DSS 誘発腸炎の併用による大腸がん誘発性の差異を検証することにより、コンソミック系統を用いた感受性及び抵抗性遺伝子同定の可能性について検討した。

- ① C57BL/6J 系統と MSM/Ms 系統を用いて両系統間の飲水量 (DSS 摂取量) を比較し、各系統における DSS の至適濃度を検討した。
- ② 至適濃度 (1-2 %) の DSS を用いて、PhIP+ DSS 誘発腸炎の併用により誘発される大腸発がんの感受性の差異を検討した。
- ③ C57BL/6J 系統を用いて、種々の実験プロトコールにより大腸発がん性を検討し、有効な PhIP 及び DSS 投与方法を検討した。

(5) 酸化 DNA 傷害修復遺伝子 MYH の新規多型と胃がん症例対照研究における評価

IVS1+11C>T (c. 36+11C>), IVS6+35A>G (c. 462+35A>G)、IVS10-2A>G (c. 892-2A>G)、c. 972C>G (Gln324His)、c. 1389G>C の 5 多型について頻度をもとめ、症例対照研究を中国と本邦で行った。本邦例で、年齢や喫煙歴などをマッチさせたロジスティック解析を行い、有意な上昇をみた多型について、江蘇省例で評価してもらった。多型解析は江蘇省腫瘍研究所では主として、DPLC で行い、当教室では、

allele specific nested PCR と PCR-CTPP を併用している。

匿名化などの留意については当施設関係施設すべての IRB にて承認を受けている。

(6) 沖縄産葉草の NO 合成酵素に及ぼす影響

J774 細胞に LPS (0.5 mg/ml)、ベニバナボロギク (BB) の熱水抽出液およびイソクロロゲン酸を加え、18 時間培養後、iNOS 蛋白を検出した。また、雄性 SD ラットに BB (20 mg/kg) またはイソクロロゲン酸 (10 mg/kg) を GalN (600 mg/kg, s.c.) と LPS (0.5 mg/kg, i.p.) を投与する 1、15 時間前に腹腔内投与し、GalN/LPS の肝障害、iNOS 発現が抑制されるかを検討した。

(倫理面への配慮)

人を対象とする研究はすべて厳密なインフォームド・コンセントを本人から得て、倫理委員会の承諾後に進めている。有害事象が生じて研究を中止する場合も本人に十分な説明をし、了解を得ている。また、動物実験は各研究者の所属施設の実験動物取り扱い (倫理) 規定を遵守して行っている。

C. 研究結果

(1) 新規変異原・がん原物質の検索

芳川河川水抽出物は YG1024 株に対し、S9 mix 存在下において強い変異原性を示した。LH-20 カラムを用いて分画したところ、Kd 値 1.50~2.75 の画分が強い活性を示した。この画分を ODS-AM カラムを用いた HPLC で分画し、強変異原性画分 Fr. 15, 21, 36 を得た。Fr. 21 を Phenyl-Hexyl カラムを用いた HPLC で分画した結果、変異原性活性本体である化合物が単離され、その化合物は HPLC における保持時間、UV 吸収スペクトルおよび MS から塩素非置換の PBTA-2 (nonCl-PBTA-2) と同定された。また、Fr. 15 および 36 についても同様に検討を行い、Fr. 15 中から nonCl-PBTA-3 および-4 を、Fr. 36 から nonCl-PBTA-7 を主要な変異原性物質として単離・同定した。これら nonCl-PBTA 化合物類のうち、nonCl-PBTA-3 および nonCl-PBTA-7 は YG1024 に株に対して非常に強い変異原性を示した。しかし、これら変異原性はその塩素置換体である PBTA-3 及び PBTA-7 に比べてそれぞれ 19 及び 8 倍低いことがわかった。

(2) 脂質過酸化により生成する変異原の同定

dG 付加体を形成した物質は、glyoxal, glyoxylic acid, ethylglyoxal, 4-oxo-2-hexenal (4-OHE) であった。又、dG の酸化体である 8-OH-dG も同定された。これらの dG 付加体は dG だけの反応やヘミンと油だけの反応からは検出されなかった。これらの付加体の種類と量はリノール酸よりリノレン

酸の反応生成物中でより多く検出された。又、4-OHE のサルモネラ菌 TA100 および TA104 に対する変異原性は、S9 による代謝活性化を行わない状態で、それぞれ 78 および 67 復帰変異コロニー/mg であった。その後の研究で、4-OHE は焼き魚等の熱処理された ω -3 不飽和脂肪酸を含む食品中から、GC/MS によって多量に (1-70 mg/g) 検出された。4-OHE は食品の保存、調理中に生じる他、肉食 (ヘミン) と高脂肪食の同時摂取により消化管で生じる可能性がある。また 4-OHE は揮発性のため油脂の製造、食品の加工、調理に携わる労働者のがん発生に関わる可能性もある。

(3) DNA 変異を指標にした発がん及び発がん抑制要因の検索と作用機作の解明に関する研究

検討した化合物は遺伝子欠損株に対する変異誘発性に基つき第一から第四までの 4 グループに分けられた。すなわちトランスリージョン DNA 合成に Pol IV が中心的な役割をはたす化合物 (第一グループ)、複数のポリメラーゼ (Pol IV と Pol V あるいは Pol II, Pol IV, Pol V) がトランスリージョン DNA 合成に関与する化合物 (第二グループ)、Pol V がトランスリージョン DNA 合成に重要な働きをし、Pol II が補助的な役割をはたす化合物 (第三グループ)、複製型のポリメラーゼ (DNA Pol III) そのものがトランスリージョン DNA 合成を行っている化合物 (第四グループ) である。第四グループには 13 種類の化合物が含まれ、CGCGCGCG 配列における誤りがちトランスリージョン DNA 合成において複製型 DNA ポリメラーゼが大きな役割をはたしていることが示唆された。突然変異を伴うトランスリージョン DNA 合成には、損傷 (変異原) の種類に応じて多様な DNA ポリメラーゼが関与していると考えられる。

(4) 大腸発がん感受性および抵抗性要因の解明

① 一日当たりの飲水量は C57BL/6J 系統の方が約 20% 程度多かった。体重差も考慮に入れた結果、DSS の総摂取量としては MSM 系統での 1.0 % 及び 1.5 % DSS が、C57BL/6J 系統の 1.5 % 及び 2.0 % DSS に相当することが分かった。

② C57BL/6J (1.5 % DSS) では実験開始後 20 週時において 3/18 (17 %) のマウスに大腸腫瘍が誘発されたのに対し、MSM/Ms (1.0 % DSS) では 0/14 (0 %) であった。C57BL/6J (2.0 % DSS) 及び MSM/Ms (1.5 % DSS) ではそれぞれ 3/6 (50 %), 0/5 (0 %) であったことから、PhIP+DSS 投与による大腸発がんにおいて C57BL/6J 系統の方が高い感受性を示すことが分かった。

③ MSM/Ms 系統では、DSS 投与による炎症は一部劇症な個体も見られたものの腸炎の持続は一過性であり、DSS 投与終了後 2 週および 4 週目での腸炎は軽微なものであった。一方 C57BL/6J 系統では、DSS 投与終了後 2 週目において炎症は極期

を迎え、4 週目においても強い炎症所見が持続して認められた。

④ PhIP+DSS 併用による大腸腫瘍の発生は、DSS の投与量依存的に増加することが分かった。さらに、PhIP の 200 mg/kg の単回投与に比べ、100 mg/kg x 2 回の分割投与のほうが平均腫瘍数は有意に増加したが、PhIP 200 mg/kg の 2 回投与群ではさらに顕著に腫瘍数の増加を認めた。PhIP+DSS 併用による大腸腫瘍の誘発では、PhIP 及び DSS が付加的な役割を果たしていることが分かった。

(5) 酸化的 DNA 傷害修復遺伝子 MYH の新規多型と胃がん症例対照研究における評価

本邦の大腸がん例、胃がん例の検索中にみいだした、IVS10-2A>G 多型は江蘇省の大腸がん例および対照群で同程度みとめられ、われわれの結果と同一であった。本邦の症例では、IVS1+11C>A がリスクを示す多型として抽出された。その機能解析を行う過程で、この多型と連鎖不平衡になっているとおもわれる-146G>A の多型を発見した。この多型は九州大腸がんのリスクに有意に関与することを見いだし、中国での解析をする予定である。

興味深いことにこの変異型は、TATGACTCCA という配列をつくるが、中央の TGACT という配列は PXR-RXR (Pregnane X receptor と 9-cis-retinoic acid receptor) の結合配列を構成するため、機能差が生じる可能性が生じるので、検証している。

(6) 沖縄産薬草の NO 合成酵素に及ぼす影響

ベニバナボロギク (BB, 1 mg/ml) およびその抗酸化成分のイソクロロゲン酸 (200 mM) は J774 細胞で LPS 刺激による iNOS 発現を抑制したが、COX-2 には影響しなかった。BB およびイソクロロゲン酸は GalN/LPS 投与による肝障害 (血清 AST、ALT 活性増加、肝過酸化脂質や NO 量の増加) を抑制し、GalN/LPS 投与による肝 iNOS mRNA の発現、ミトコンドリアの iNOS 蛋白の発現を抑制した。また、GalN/LPS による TNF- α の増加も両者の前投与により抑制された。これらの事より、BB およびイソクロロゲン酸は TNF- α を介する NO 合成酵素誘導を抑制し、肝保護作用を有することが示唆された。

D. 考察

(1) 新規変異原・がん原物質の検索

芳川河川中の変異原物質として、non-C1PBTA-2, -3, -4 及び -7 を分離・同定した。このうちの nonC1-PBTA-3 および nonC1-PBTA-7 は YG1024 に株に対して非常に強い変異原性を示すが、これら変異原性はその塩素置換体である PBTA-3 及び PBTA-

7 に比べて低いことから、塩素原子が変異原性の増強に関与していると思われる。その理由として、塩素原子が存在する事により、化合物の脂溶性が増し、細胞内への取込みが上昇することから、塩素非置換の nonCl-PBTA-3 および nonCl-PBTA-7 では変異原活性が塩素置換体のそれらと比較して減少することが示唆された。

また、これらの nonCl-PBTA は染色工場などにおいて対応するアゾ染料から生成し、河川中に排出されたものと考えられる。

(2) 脂質過酸化により生成する変異原の同定

脂質過酸化のモデル反応混合物中より glyoxal、glyoxylic acid、ethylglyoxal、4-OHE の様な変異原物質を同定する事が出来た。4-OHE は焼き魚の様な熱処理された ω -3 不飽和脂肪酸を含む食品中から、GC/MS によってかなり多量に検出された。 α -リノレン酸やドコサヘキサエン酸 (DHA)、エイコサペンタエン酸 (EPA) の様な ω -3 不飽和脂肪酸は、癌予防に重要な役割を持つ脂肪酸として知られているが、それらの酸化分解産物である 4-OHE についてはこれまでほとんど研究されていない。4-OHE は食品の保存、調理中に生じる他、肉食 (ヘミン) と高脂肪食の同時摂取により消化管で生じる可能性がある。また 4-OHE は揮発性のため油脂の製造、食品の加工、調理に携わる労働者のがん発生に関わる可能性もある。われわれはこのように新規変異原物質 4-oxo-2-hexenal を発見した。この物質の発癌性に関しては現在検討中である。

(3) DNA 変異を指標にした発がん及び発がん抑制要因と作用機作の解明に関する研究

今回得られた結果は、CGCGCGC 配列で起こる欠失 (-CG) を伴うトランスリージョン DNA 合成には、損傷 (変異原) の種類に応じて多様な DNA ポリメラーゼが関与することを示している。すなわち第一グループによって誘発される損傷 (これは主にグアニンの N2 付加体と予想される) のトランスリージョン DNA 合成には Pol IV の関与が示唆される。第二のグループに属する化合物によって誘発される損傷のトランスリージョン DNA 合成には、Pol IV と Pol V の両者が必要とされることが示唆される。3-MC と BP 7,8-tetrahydroepoxide の場合には Pol II, Pol IV, Pol V が全てトランスリージョン DNA 合成に関与しているものと考えられる。作用機構の詳細は不明であるが、二種 (Pol IV, Pol V) ないし三種の Pol (Pol II, Pol IV, Pol V) がそれぞれ異なった過程 (例えばプライマー鎖の再合成、損傷乗り越え、プライマー鎖の伸長) に関与している可能性が考えられる。第三のグループに属する化合物については Pol V がトランスリージョン DNA 合成に関与することが示唆され、Pol II も補助的な役割をはたしているものと考えられ

る。第四のグループは、いずれの Pol 遺伝子を破壊しても変異原性が減弱しなかったことから、複製型の DNA ポリメラーゼ (DNA Pol III) そのものがトランスリージョン DNA 合成に関与しているものと考えられる。

(4) 大腸発がん感受性および抵抗性要因の解明

PhIP+DSS 併用による大腸腫瘍の誘発では、PhIP 及び DSS が付加的な役割を果たしていることが分かった。また、C57BL/6J 及び MSM/Ms マウス系統間で認められた大腸発がん性の差異に関しては、DSS 腸炎に対する感受性の差が大きく寄与している可能性が示唆された。しかしながら、C57BL/6J を用いた種々の実験条件の検討から、PhIP+DSS 腸炎併発の大腸がんモデルでは PhIP の投与量依存的に大腸腫瘍の誘発数が増加することから、C57BL/6J 及び MSM/Ms 系統間の差異も、PhIP に対する感受性及び DSS 腸炎に対する感受性が相互に付加的な役割をしている可能性が示唆された。即ち、本モデルを用いることにより、発がんのイニシエーターである PhIP に対する感受性及び DSS 腸炎に対する感受性を規定している遺伝的要因の両方をマッピングし、責任遺伝子を同定できる可能性がある。

(5) 酸化的 DNA 傷害修復遺伝子 MYH の新規多型と胃がん症例対照研究における評価

MYH 多型の、散発性の大腸がんへのリスクについて、米国で 2000 対くらいの症例対照研究が行われ、ミスセンス変異の一部がヘテロでも多少有意の上昇をみている。彼らのみているような多型はアジアではほとんどと言っていいほどなく、そのかわりに 5%ほど、機能差のある多型が存在するようである。これらの多型のアジアの大腸がんにおける意義は不明である。家族性大腸腺腫症などでも、かならず、APC 変異検索がされているわけではないというのが実態であるので、MYH associated polyposis の原因となるような MYH の生殖細胞変異も今後本邦でも見いだされてくると思われる。われわれが想定している 5' 側の多型は、シグナル伝達上 PXR-RXR の上流にあり遺伝環境相関にかかわるものであると考察している。

(6) 沖縄産葉草の NO 合成酵素に及ぼす影響

LPS は種々の細胞で iNOS を誘導すること、GalN は DNA 合成阻害、膜蛋白合成阻害により肝障害を起こすことが知られており、GalN/LPS 併用は大量の NO 発生を伴う敗血症モデルとして用いられる。ベニバナボロギク (BB) およびイソクロゲン酸が培養細胞の iNOS 発現を抑制する結果が得られたことから GalN/LPS 肝障害への作用を検討したところ、iNOS mRNA 発現抑制、iNOS 蛋白抑制が見られ、両者は in vivo でも iNOS 誘導を抑制することが確認された。BB の iNOS 誘導抑制のメカニズム

ムとして、LPS はマクロファージを活性化してサイトカインの TNF- α を遊離して iNOS を誘導することから、BB は GalN/LPS による TNF- α の遊離を抑制することにより iNOS 誘導を抑制することが示唆された。また、BB は GalN/LPS による DNA 断片化を抑制し、ミトコンドリアの iNOS 発現も抑制していることから、ミトコンドリアの NO を介するアポトーシスを抑制する可能性が示唆された。

E. 結論

河川中の強変異原物質である PBTA 化合物の非塩素化誘導体(non-ClPBTA-2, -3, -4 及び-7)が静岡県の染色工場地域を流れる河川水から検出された。これら化合物は PBTA と同様に染色過程でアゾ色素から生成し、河川中に放出されたと思われる。

食品中の変異原を同定することは多くの困難を伴うが癌予防のためには重要な研究である。脂質過酸化のモデル反応により生成する変異原物質を deoxyguanosine (dG) 付加体として分離、同定した。dG 付加体を形成した物質は、glyoxal、glyoxylic acid、ethylglyoxal、4-oxo-2-hexenal(4-OHE)であった。4-OHE は S9 による代謝活性化無しでサルモネラ菌 TA100 および TA104 に対し変異原性を示した。4-OHE は焼き魚の様な熱処理された ω -3 不飽和脂肪酸を含む食品中から、GC/MS によってかなり多量に検出された。 ω -3 不飽和脂肪酸は、癌予防に重要な役割を持つ脂肪酸として知られているが、それらの酸化分解産物の変異原性についてはほとんど研究されていない。今回見いだされた 4-OHE の発癌性に関しては現在検討中であるが酸化された ω -3 不飽和脂肪酸は健康に害を及ぼす可能性が考えられる。

サルモネラ TA1538 株の DNA ポリメラーゼ遺伝子を系統的に破壊することにより(1)DNA 損傷の違いにより異なった DNA ポリメラーゼがトランスリージョン DNA 合成に関与すること(2)損傷の種類によっては複数の DNA ポリメラーゼがトランスリージョン DNA 合成に関わる場合があること(3)複製型の DNA ポリメラーゼもトランスリージョン DNA 合成に関与することが示唆された。

PhIP+DSS 誘発大腸発がんモデルにおいて、C57BL/6J 及び MSM/Ms マウス系統間において、DSS 腸炎の誘発性及び大腸発がんの感受性に系統差があることが認められた。この系統差は、炎症の強さ及びイニシエーターである PhIP の投与量の両方に依存することが分かり、また C57BL/6J-MSM 系統のコンソミック系統を用いた感受性遺伝子同定の有効性が示唆された。本研究の成果は、発がん高リスク群の掌握といった予防医学的な観点からも社会的貢献は甚大である。

MYH の多型は、機能差があっても容易にその修

復能ががんの感受性に直結しないものもあるようである。また、散発性大腸がんを多数比較するとリスクを modest に上昇させるような多型が存在し、欧米の研究と共通点はある。ただ、重要性のある多型は人種間で異なる可能性がある。MYH の a 型と b 型とふたつの exon 1 があるが、ヒトの消化器や呼吸器の腫瘍発生を見る場合、ふつうは核内の b 型を念頭におく。今回見いだした多型はむしろ a 型の発現を変える可能性が強く、ligand 次第でこの分子の細胞内における働き方が変わり、発がんの感受性に影響している可能性もあると想像している。いずれにせよ、MYH associated polyposis という疾患概念がかなり明確になってきた割には、この遺伝子多型のアジアの大腸がんでの意義について未解決の点が多い。

ベニバナボロギクおよび抗酸化成分のイソクロロゲン酸は J774 細胞で LPS 刺激による iNOS 発現を抑制した。また、ベニバナボロギク及びイソクロロゲン酸はラットの GalN/LPS 投与による肝障害を抑制したが、これには TNF- α を介する iNOS 発現の抑制が関与していることが示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究論文

1. 論文発表

1. Watanabe T, Hasei T, Takahashi T, Asanoma M, Murahashi T, Hirayama T, Wakabayashi K. Detection of a novel mutagen, 3,6-dinitrobenzo[e]pyrene, as a major contaminant in surface soil in Osaka and Aichi prefectures, Japan. *Chem Res Toxicol.* 18:283-289, 2005.
2. Totsuka Y, Nishigaki R, Enomoto S, Takamura-Enya T, Masumura K, Nohmi T, Kawahara N, Sugimura T, Wakabayashi K. Structures and biological properties of DNA adducts derived from N-nitroso bile acid conjugates. *Chem Res Toxicol.* 18:1553-1562, 2005.
3. Takamura-Enya T, Mano N, Kawahara N, Goto J, Wakabayashi K. Formation of DNA adducts with cholylyl adenylate, a putative intermediate for biosynthesis of cholylyl-CoA. *Chem Res Toxicol.* 18:1715-1720, 2005.
4. Matsui K, Yamada M, Imai M, Yamamoto K, Nohmi T. Specificity of replicative and SOS-inducible DNA polymerases in frameshift mutagenesis: Mutability of *Salmonella typhimurium* strains overexpressing SOS-inducible DNA

- polymerases to 30 chemical mutagens. DNA Repair. in press, 2006.
5. Sato Y, Takahashi S, Kinouchi Y, Shiraki M, Endo K, Matsumura Y, Kakuta Y, Tosa M, Motida A, Abe H, Imai G, Yokoyama H, Nomura E, Negoro K, Takagi S, Aihara H, Masumura K, Nohmi T, Shimosegawa T. IL-10 deficiency leads to somatic mutations in a model of IBD. *Carcinogenesis*. in press, 2006.
 6. Yamada M, Matsui K, Nohmi T. Development of a bacterial hyper-sensitive tester strain for specific detection of the genotoxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Genes and Environ*. 28: 23-30, 2006.
 7. Mazaki M, Kataoka K, Kinouchi T, Vinitketkumnuen U, Yamada M, Nohmi T, Kuwahara T, Akimoto S, Ohnishi Y. Inhibitory effects of caraway (*Carum carvi* L.) and its component on N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine-induced mutagenicity. *J. Med. Invest*. 53: 123-133, 2006.
 8. Asami Y, Murakami M, Shimizu M, Pisani F M, Hayata I, Nohmi T. Visualization of the interaction between archaeal DNA polymerase and uracil-containing DNA by atomic force microscopy. *Genes to Cells*. 11: 3-11, 2006.
 9. Nishikawa A, Sai K, Okazaki K, Son H Y, Kanki K, Nakajima M, Kinoshita N, Nohmi T, Trosko J E, Inoue T, Hirose, M. MX, a by-product of water chlorination, lacks in vivo genotoxicity in gpt delta mice but inhibits gap junctional intercellular communication in rat WB cells. *Env. Mol. Mutagen*. 47: 48-55, 2006.
 10. Miyazaki M, Yamazaki H, Takeuchi H, Saoo K, Yokohira M, Masumura K, Nohmi T, Funae Y, Imaida K, Kamataki T. Mechanisms of chemopreventive effects of 8-methoxypsoralen against 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone-induced mouse lung adenomas. *Carcinogenesis*. 26: 1947-1955, 2005.
 11. Kim S R, Kokubo K, Matsui K, Yamada N, Kanke Y, Fukuoka M, Yamada M, Nohmi T. Light-dependent mutagenesis by benzo[a]pyrene is mediated via oxidative DNA damage. *Env. Mol. Mutagen*. 46: 141-149, 2005.
 12. Satou K, Yamada M, Nohmi T, Harashima H, Kamiya H. Mutagenesis induced by oxidized DNA precursors: roles of Y-family DNA polymerases in *Escherichia coli*. *Chem. Res. Tox.* 18: 1271-1278, 2005.
 13. Hashimoto A, Amanuma K, Hiyoshi K, Takano H, Masumura K, Nohmi T, Aoki Y. In vivo mutagenesis caused by benzo[a]pyrene instilled into the lung of gpt delta transgenic mice. *Env. Mol. Mutagen*, 45: 365-373, 2005.
 14. Shibata A, Kamada N, Masumura K, Nohmi T, Kobayashi S, Teraoka H, Nakagama H, Sugimura T, Suzuki H, Masutani M. Parp-1 deficiency causes an increase of deletion mutations and insertions/rearrangements in vivo after treatment with an alkylating agent. *Oncogene*, 24: 1328-1337, 2005.
 15. Kanki K, Nishikawa A, Masumura K, Umemura T, Imazawa T, Kitamura Y, Nohmi T, Hirose M. In vivo mutational analysis of liver DNA in gpt delta transgenic rats treated with the hepatocarcinogens N-nitrosopyrrolidine, 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline, and di(2-ethylhexyl)phthalate. *Mol. Carcinog*. 42: 9-17, 2005.
 16. Kokubo K, Yamada M, Kanke Y, Nohmi T. Roles of replicative and specialized DNA polymerases in frameshift mutagenesis: mutability of *Salmonella typhimurium* strains lacking one or all of SOS-inducible DNA polymerases to 26 chemicals. *DNA Repair*. 4: 1160-1171, 2005.
 17. Nohmi T, Kim S R, Yamada M. Modulation of oxidative mutagenesis and carcinogenesis by polymorphic forms of human DNA repair enzymes. *Mutat. Res*. 591: 60-72, 2005.
 18. Nohmi T, Masumura K. Molecular dissection of in vivo DNA rearrangements induced by radiation and chemical mutagens, International Congress Series (High Levels of Natural Radiation and Radon Areas: Radiation Dose and Health Effects). 1276: 25-28, 2005.
 19. Nohmi T, Masumura K. Molecular natural of intra-chromosomal deletions and base substitutions induced by environmental mutagens. *Env. Mol. Mutagen*, 45: 150-161, 2005.
 20. Kasai H, Maekawa M, Kawai K, Hachisuka K, Takahashi Y, Nakamura H, Sawa R, Matsui S, Matsuda T. 4-Oxo-2-hexenal, a mutagen formed by w-3 fat peroxidation, causes DNA adduct formation in mouse organs. *Ind*

- Health, 43:699-701, 2005.
21. Maekawa M, Kawai K, Takahashi Y, Nakamura H, Watanabe T, Sawa R, Hachisuka K, Kasai H, Identification of 4-oxo-2-hexenal and other direct mutagens formed in model lipid peroxidation reactions as dG-adducts, *Chem. Res. Toxicol.* 19:130-138, 2006.
 22. Kawai K, Matsuno K, Kasai H. Detection of 4-oxo-2-hexenal, a novel mutagenic product of lipid peroxidation, in human diet and cooking vapor. *Mutat. Res.*, 603:186-92 (2006).
 23. Nakagama H, Higuchi K, Tanaka E, Tsuchiya N, Nakashima K, Katahira M, Fukuda H. Molecular mechanisms for maintenance of G-rich short tandem repeats capable of adopting G4 DNA structures. *Mutat Res.* in press, 2006.
 24. Suzuki R, Kohno H, Sugie S, Nakagama H, Tanaka T. Strain differences in the susceptibility to azoxymethane and dextran sodium sulfate-induced colon carcinogenesis in mice. *Carcinogenesis.* in press, 2006.
 25. Osawa E, Nakajima A, Fujisawa T, Kawamura Y, Toyama-Sorimachi N, Nakagama H, Dohi T. Predominant T helper type 2-inflammatory responses promote murine colon cancers. *Int J. Cancer.* 118: 2232-2236, 2006.
 26. Fukuda H, M. Katahira, Tanaka E, Enokizono Y, Tsuchiya N, Higuchi K, Nagao M, Nakagama H. Unfolding of higher DNA structures formed by the d(CGG) triplet repeat by UP1 Protein. *Genes Cells.* 10: 953-962, 2005.
 27. Nakagama H, Nakanishi M, Ochiai M. Modeling human colon cancer in rodents using a food-borne carcinogen, PhIP. *Cancer Sci.* 96: 627-636, 2005.
 28. Ochiai M, Watanabe M, Nakanishi M, Taguchi A, Sugimura T, Nakagama H. Differential staining of dysplastic aberrant crypt foci in the colon facilitates prediction of carcinogenic potentials of chemicals in rats. *Cancer Lett.* 220: 67-74, 2005.
 29. Ushigome M, Ubagai T, Fukuda H, Tsuchiya N, Sugimura T, Takatsuka J, Nakagama H. Up-regulation of the hnRNPA1 gene in human colorectal cancer. *Int J Oncol.* 26: 635-640, 2005.
 30. Shibata A, Kamada N, Masumura K, Nohmi T, Kobayashi S, Teraoka H, Nakagama H, Sugimura T, Suzuki H, Masutani M. Parp-1 deficiency causes an increase of deletion mutations and insertions/rearrangements in vivo after treatment with an alkylating agent. *Oncogene.* 24:1328-1337, 2005.
 31. Shinmura K, Goto M, Tao H, Shimizu S, Otsuki Y, Kobayashi H, Ushida S, Suzuki K, Tsuneyoshi T, Sugimura H. A novel STK11 germline mutation in two siblings with Peutz-Jeghers syndrome complicated by primary gastric cancer *Clinical Genetics*, 67 :81-86, 2005.
 32. Nakamura R, Kataoka H, Sato N, Kanamori M, Ihara N, Igarashi H, Ravshanov S, Wang Y, Li Z, Shimamura T, Kobayashi T, Konno H, Shinmura K, Tanaka M, Sugimura H. EPHA2/EFNA1 expression in human gastric cancer *Cancer Science.* 96: 42-47, 2005.
 33. Uchida C, Miwa S, Kitagawa K, Hattori T, Isobe T, Otani S, Oda, T, Sugimura H, Kamiyo T, Ookawa K, Yasuda H, Kitagawa M. Enhanced Mdm2 activity inhibits pRB function via ubiquitin-dependent degradation. *EMBO J.* 24:160-169, 2005.
 34. Aoki M, Yamamura Y, Noshiro H, Sakai, K, Yokota J, Kohno T, Tokino T, Ishida S, Ohyama S, Ninomiya I, Uesaka K, Kitajima M, Shimada S, Matsuno S, Yano M, Hiratsuka M, Sugimura H, Itoh F, Minamoto T, Maehara Y, Takenoshita S, Aikou T, Katai H, Yoshimura K, Takahashi T, Akagi K, Sairenji M, Yamamoto K, Sasazuki T. A full genome scan for gastric cancer. *J. Med. Genet.* 42: 83-87, 2005.
 35. Shimamura T, Ito H, Shibahara J, Watanabe A., Hippo Y, Taniguchi H, Chen Y, Kashima T, Ohtomo T, Tanioka F, Iwanari H, Kodama T, Kazui T, Sugimura H, Fukayama M, Aburatani H. Over-expression of MUC13 Is Associated with Intestinal Type. *Cancer Sci.* 96: 265-273, 2005.
 36. Wang J, Kataoka H, Suzuki M, Sato N, Nakamura R, Tao H, Nakamura T, Maruyama K, Isogaki J, Kanaoka S, Ihara M, Tanaka M, Kanamori M, Shinmura K, Sugimura H. Downregulation of EphA7 by hypermethylation in colorectal cancer. *Oncogene.* 24: 5637-5647, 2005.
 37. Maekawa M, Taniguchi T, Uramoto T, Higashi H, Horii T, Takeshita A, Sugimura H, Kanamori M. Pilot study of arbitrarily primed PCR-single stranded DNA

- conformation polymorphism analysis for screening genetic polymorphisms related to specific phenotypes. *Clinica Chimica Acta*. 355: 181-184, 2005.
38. Yamada H, Sugimura H, Tsuneyoshi T. Suppressive effect of epigallocatechin gallate (EGCg) on DNA methylation in mice: Detection by methylation sensitive restriction endonuclease digestion and PCR. *J. Food, Agriculture & Environment*. 3: 73-76, 2005.
 39. Yamada H, Shinmura K, Tsuneyoshi T, Sugimura H. Effect of splice-site polymorphisms of the TMRSS4, NPHP4, and ORCTL4 genes on their mRNA expression. *J. Genetics*. 84: 131-136, 2005.
 40. Aoki M, Yamamoto K, Ohyama S, Yamamura Y, Takenoshita S, Sugano K, Minamoto T, Kitajima M, Sugimura H, Shimada S, Noshiro H, Hiratsuka M, Sairenji M, Ninomiya I, Yano M, Uesaka K, Matsuno S, Maehara Y, Aikou T, Sasazuki T. A genetic variant in the gene encoding the stress70 protein chaperone family member STCH is associated with gastric cancer in the Japanese population. *Biochem Biophys Res Commun*. 335: 566-574, 2005.
 41. Raimondi S, Boffetta P, Anttila S, Brockmoller J, Butkiewicz D, Cascorbi I, Clapper M L, Dragani T A, Garte S, Gsur A, Haidinger G, Hirvonen A, Ingelman-Sundberg M, Kalina I, Lan Q, Leoni V P, Marchand L L, London S J, Neri M, Povey A C, Rannug A, Reszka E, Ryberg D, Risch A, Romkes M, Ruano-Ravina A, Schoket B, Spinola M, Sugimura H, Wu X, Taioli E. Metabolic gene polymorphisms and lung cancer risk in non-smokers An update of the GSEC study. *Mutat Res*. 592: 45-57, 2005.
 42. Igarashi H, Yamashita K, Suzuki M, Kitayama Y, Isogaki J, Maruyama K, Sunayama K, Tsuda H, Ozawa T, Kiyose S, Sugimura H. Simultaneous imaging of membrane antigen and the corresponding chromosomal locus in pathology archives. *Pathol. Int*. 55: 753-756, 2005.
 43. Kitayama Y, Sugimura H. A nonrandom chromosomal numerical abnormality as a new molecular cytogenetic tumor marker. A retrospective study of 60 gastric cancer cases. *Jpn J Lab Med (Rinsho Byori)*. 53: 881-886, 2005.
 44. Sano T, Kitayama Y, Igarashi H, Suzuki M, Tanioka F, Chida K, Okudela K, Sugimura H. Chromosomal numerical abnormalities in early stage lung adenocarcinoma. *Pathol Int*. 56:117-125, 2006.
 45. Kikuchi H, Yamashita K, Kawabata T, Yamamoto M, Hiramatsu Y, Kondo K, Baba M, Ohta M, Kamiya K, Tanaka T, Suzuki S, Kitagawa K, Kitagawa M, Sugimura H, Konno H. Immunohistochemical and genetic features of gastric and the metastatic liver GISTs, sequential analyses. *Cancer Sci*. 97: 127-132, 2006.
2. 学会発表
- 1) 戸塚ゆ加里、西垣玲奈、高村岳樹、杉村隆、若林敬二、N-ニトロソ胆汁酸抱合体より生成される DNA 付加体の構造解析、第 64 回日本癌学会総会、札幌、(2005 年 9 月)
 - 2) 高村岳樹、石川さと子、望月正隆、杉村隆、若林敬二、変異・がん原性アミノ、ニトロ-芳香族化合物の DNA 付加体の効率的合成法、第 64 回日本癌学会総会、札幌、(2005 年 9 月)
 - 3) 西垣玲奈、戸塚ゆ加里、牛山博文、後藤純雄、杉村隆、若林敬二、ヒト尿中の aminophenylnorharman (APNH) の検出、第 64 回日本癌学会総会、札幌、(2005 年 9 月)
 - 4) 大江武、水野智子、戸塚ゆ加里、高村岳樹、小田美光、若林敬二、N-hydroxy-aminophenylnorharman の染色体異常誘発能及び突然変異スペクトル、日本環境変異原学会第 34 回大会、東京、(2005 年 11 月)
 - 5) 戸塚ゆ加里、西垣玲奈、榎本茂樹、高村(塩谷)岳樹、増村健一、能美健彦、杉村隆、若林敬二、N-ニトロソタウロコール酸より生成される DNA 付加体の構造解析、日本環境変異原学会第 34 回大会、東京、(2005 年 11 月)
 - 6) 高村岳樹、眞野成康、川原信夫、後藤順一、若林敬二、胆汁酸アデニレートより生成する DNA 付加体の解析、日本環境変異原学会第 34 回大会、東京、(2005 年 11 月)
 - 7) 渡辺徹志、長谷井友尋、麻野間正晴、若林敬二、平山晃久、大阪府及び愛知県の表層土壌中の主要な変異原物質の同定、日本環境変異原学会第 34 回大会、東京、(2005 年 11 月)
 - 8) 麻野間正晴、寺田久屋、田村征男、高橋和彦、渡辺徹志、平山晃久、寺尾良保、塩澤竜志、糠谷東雄、高村岳樹、若林敬二、中部地方における河川水中の変異原の分離・同定、日本環境変異原学会第 34 回大会、東京、(2005 年 11 月)
 - 9) 日高勝彦、山田雅巳、紙谷浩之、益谷央豪、原島秀吉、花岡文雄、能美健彦、DNA ポリメラーゼ η による酸化損傷 dNTP 取り込みで生ずる突然変異の特徴、第 28 回日本分子生物学

- 会年会、福岡、(2005年12月)
- 10) 山田雅巳、松井恵子、今井勝、山本和生、能美健彦、DNAポリメラーゼのヒエラキー、第28回日本分子生物学会年会、福岡、(2005年12月)
 - 11) Hashimoto A H, Amanuma K, Masumura K, Nohmi T, Aoki Y. In vivo mutagenicity of diesel exhaust inhalation in the testis of gpt delta mice, 日本環境変異原学会第34回大会、東京 (2005年11月)
 - 13) Sakamoto Y, Masumura K, Ikeda M, Hirata A, Tsukamoto T, Tatematsu M, Nohmi T. Mutational analyses of p53 deficient gpt delta transgenic mice treated with N-bis(2-hydroxypropyl) nitrosamine (DHPN) and 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ), 日本環境変異原学会第34回大会、東京 (2005年11月)
 - 14) Yamada M, Matsui K, Nohmi T. Development of bacterial tester strains to detect the mutagenicity of polycyclic aromatic hydrocarbons sensitively and specifically, 日本環境変異原学会第34回大会、東京 (2005年11月)
 - 15) Sui H, Kawakami K, Ohyama N, Hara T, Nohmi T. Further improvement of high-throughput fluctuation Ames test (FAT): the effects of dinB plasmid (IV), 日本環境変異原学会第34回大会、東京 (2005年11月)
 - 16) Nishigaki R, Totsuka Y, Mori Y, Masumura K, Nohmi T, Sugimura T, Wakabayashi K. Analysis of N-nitroso-bis(2-oxopropyl)amine (BOP) and its metabolites in pancreatic juice of Syrian golden hamsters treated with BOP, 日本環境変異原学会第34回大会、東京 (2005年11月)
 - 17) Horiguchi M, Aoe S, Tanaka C, Tutuki H, Yamada M, Matui K, Nohmi T, Ikegami S. Evaluation of inhibitory effects of food components on genotoxicity of chemicals by Ames test, 日本環境変異原学会第34回大会、東京 (2005年11月)
 - 18) Masumura K, Ikeda M, Sakamoto Y, Wang B, Neno M, Sakuma K, Hayata I, Nohmi T. Effect of low dose-rate gamma-irradiation on 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) induced mutagenesis in gpt delta mice, 日本環境変異原学会第34回大会、東京 (2005年11月)
 - 19) Sakamoto Y, Masumura K, Ikeda M, Hirata A, Tsukamoto T, Tatematsu M, Nohmi T. Mutational analysis of p53 deficient gpt delta mice treated with N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine and 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline, 日本環境変異原学会第34回大会、東京 (2005年11月)
 - 20) Matsui K, Yamada M, Imai M, Yamamoto K, Nohmi T. Specificity of replicative and SOS-inducible DNA polymerases in frameshift mutagenesis: Mutability of Salmonella typhimurium strains overexpressing SOS-inducible DNA polymerases to 30 chemical mutagens, 日本環境変異原学会第34回大会、東京 (2005年11月)
 - 21) 増村健一、坂元康晃、池田 恵、平田暁大、塚本徹哉、立松正衛、能美健彦、p53欠損gpt delta マウスにおけるN-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine誘発突然変異の解析、第64回日本癌学会学術総会、札幌(2005年9月)
 - 22) 神吉けい太、西川秋佳、梅村隆志、増村健一、石井雄二、黒岩有一、児玉幸夫、能美健彦、広瀬雅雄、p53^{+/+}/gpt delta マウス肝臓におけるアクロレイン経口投与によるin vivo遺伝子変異の検索、第64回日本癌学会学術総会、札幌(2005年9月)
 - 23) 柴田淳史、能美健彦、寺岡弘文、中釜 斉、杉村 隆、鈴木 宏志、益谷美都子、Parp-1欠損マウスの加齢個体における自然突然変異の解析、第64回日本癌学会学術総会、札幌(2005年9月)
 - 24) 梅村隆志、神吉けい太、黒岩有一、石井雄二、岡野圭太、能美健彦、西川秋佳、広瀬雅雄、ラット腎発がん剤臭素酸カリウム(KBrO₃)による酸化的DNA損傷、in vivo変異原性およびイニシエーション活性、第64回日本癌学会学術総会、札幌(2005年9月)
 - 25) 西川秋佳、神吉けい太、梅村隆志、増村健一、石井雄二、黒岩有一、児玉幸夫、能美健彦、広瀬雅雄、Pentachlorophenol投与マウス肝における遺伝子突然変異の解析、第64回日本癌学会学術総会、札幌(2005年9月)
 - 26) 能美健彦、SOS DNAポリメラーゼ：環境とゲノム進化を結ぶ架け橋、第7回日本進化学会大会、仙台 (2005年8月)
 - 27) 能美健彦、ハイ・スループット遺伝毒性試験系の構築、第32回日本トキシコロジー学会学術年会、東京 (2005年6月)
 - 28) Nohmi T. Roles of multiple DNA polymerases in mutagenic bypass of DNA lesions by various environmental chemicals. Gordon Research Conference "DNA damage, mutation and cancer", Ventura, U. S. A., (March 2006).
 - 29) Nohmi T. Environmental mutagenesis: from molecules to man. 9th International Conference on Environmental Mutagens (9th ICEM). San Francisco, U. S. A., (September 2005).
 - 30) Satou K, Yamada M, Nohmi T, Harashima H,

- Kamiya H. Roles of the Escherichia coli DinB and UmuDC proteins in mutations induced by oxidized DNA precursors. 9th International Conference on Environmental Mutagens (9th ICEM). San Francisco, U.S.A., (September 2005).
- 31) Totsuka Y, Takamura T, Enomoto S, Nishigaki R, Kawahara N, Masumura K, Nohmi T, Sugimura T, Wakabayashi K. Structures of DNA adducts derived from N-nitrosotaurocholic acid. 9th International Conference on Environmental Mutagens (9th ICEM). San Francisco, U.S.A., (September 2005).
- 32) Shibata A, Nohmi T, Teraoka H, Nakagama H, Sugimura T, Suzuki H, Masutani M. increased mutations in Parp-1 knockout mice after treatment with an alkylating agent and with aging. 9th international Conference on Environmental Mutagens (9th ICEM). San Francisco, U.S.A., (September 2005).
- 33) Kokubo K, Yamada M, Kanke Y, Nohmi T. Roles of replicative and specialized DNA polymerases in frameshift mutagenesis: mutability of Salmonella typhimurium strains lacking one or all of SOS-inducible DNA polymerases to 26 chemicals. 9th International Conference on Environmental Mutagens (9th ICEM). San Francisco, U.S.A., (September 2005).
- 34) Aoki Y, Hashimoto A, Amanuma K, Hiyoshi K, Yanagisama T, Takano H, Masumura K, Nohmi T. In vivo mutagenicity of diesel exhaust and its components, benzo(a)pyrene and 1,6-dinitropyrene in the lungs of gpt delta mice. 9th International Conference on Environmental Mutagens (9th ICEM). San Francisco, U.S.A., (September 2005).
- 35) Masumura K, Hoshino M, Yatagai F, Ochiai M, Nakagama H, Nohmi T. Non-homologous end-joining in X-ray-irradiated scid/gpt delta transgenic mouse. 9th International Conference on Environmental Mutagens (9th ICEM). San Francisco, U.S.A., (September 2005).
- 36) Takeiri A, Mishima M, Tanaka K, Shioda A, Harada A, Watanabe K, Deki T, Masumura K, Nohmi T. Molecular characterization of cisplatin and transplatin-induced base substitutions and deletion mutations in newly established gpt delta L1 cells. 9th International Conference on Environmental Mutagens (9th ICEM). San Francisco, U.S.A., (September 2005).
- 37) Nakagama H, Ochiai M, Shibata A, Masumura K, Nohmi T, Sugimura T, Masutan M. In vivo mutation spectrum in gpt delta transgenic mice after treatment with alkylating agents under Parp-1-deficient and DNA-PKcs-deficient conditions. 9th International Conference on Environmental Mutagens (9th ICEM). San Francisco, U.S.A., (September 2005).
- 38) Hayashi H, Shindo Y, Nohmi T. Carcinogenic risk estimation of organ specific mutagenicity induced by phenacetin using gpt delta transgenic rats. 9th International Conference on Environmental Mutagens (9th ICEM). San Francisco, U.S.A., (September 2005).
- 39) Nohmi T. Y-family DNA polymerases in archaea and eubacteria, and their roles in genome maintenance. Gordon Research Conference "Archaea: Ecology, Metabolism and Molecular Biology", Oxford, U.K., (August 2005).
- 40) 河井 一明、前川 宗之、松田 知成、松井 三郎、葛西 宏 過酸化脂質由来変異原によるマウス臓器DNA付加体の形成 第64回日本癌学会学術総会、札幌、2005年9月
- 41) 前川 宗之、河井 一明、葛西 宏 過酸化脂質モデル反応により生成する変異原・dG付加体の構造 第64回日本癌学会学術総会、札幌、2005年9月
- 42) Kawai K, Maekawa M, Hachisuka K, Matsui M, Matsuda T, Kasai H. 4-Oxo-2-hexenal in cooked foods and DNA adduct formation in mouse organs after oral administration. 9th International Conference on Environmental Mutagens. San Francisco, U.S.A, (Sep. 2005) .
- 43) Maekawa M, Kawai K, Hachisuka K, Takahashi Y, Nakamura H, Sawa R, Kasai H. Identification of 4-oxo-2-hexenal as adduct in a model lipid peroxidation reaction and its mutagenicity to TA 100 and 104. 9th International Conference on Environmental Mutagens. San Francisco, U.S.A, (Sep. 2005) .
- 44) Nakagama H, Higuchi H, Tanaka E, Nagao M, Fukuda, H. Maintenance of genomic stability at G/C-rich repetitive DNA sequences. 9th ICEM & 36th Annual Meeting of the Environmental Mutagen Society (San Francisco, CA; 9.03-9.08., 2005).
- 45) 46) 落合雅子、渡辺昌俊、杉村 隆、中釜 斉. 分別染色法により検出される異型 ACF と MDF 及び flat dysplastic ACF との関連性の検討. 第64回日本癌学会総会 (札幌; 9.14-9.16., 2005)
- 47) 阿部浩一郎、田澤 大、落合雅子、杉村 隆、

- 久山 泰、中釜 齊. 発がん感受性の異なるラット系統間で誘発される PhIP 大腸腫瘍の遺伝子発現における質的違いの検討. 第 64 回日本癌学会総会 (札幌 ; 9. 14-9. 16., 2005)
- 48) Ochiai M, Nakanishi M, Fujiwara K, Sugimura T, Nakagama H. Toxicogenomic approach to the prediction of carcinogenic potentials of heterocyclic amines in rat colon. 第 34 回日本環境変異原学会大会 (東京 ; 11. 16-11. 18., 2005)
- 49) 中西雅子、田澤 大、田中卓二、杉村 隆、中釜 齊. PhIP と DSS により誘発されるマウス大腸発がんモデルの病体解析. 第 22 回日本疾患モデル学会総会 (伊香保 ; 11. 24. - 11. 25., 2005)
- 50) 落合雅子、中西雅子、藤原恭子、杉村 隆、中釜 齊. 網羅的遺伝子発現解析によるヘテロサイクリックアミン類の大腸発がん性予測の検討. 第 28 回日本分子生物学会年会 (福岡 ; 12. 07. -12. 10., 2005)
- 51) 中西雅子、桑村 充、吉田 緑、前川昭彦、中釜 齊. C57BL/6J マウスに認められた肝細胞の顆粒状変性/脂肪化と細胞周囲性繊維化を特徴とする肝病変の 1 例. 第 22 回日本毒性病理学会 (鹿児島 ; 1. 26. -1. 27., 2006)
- 52) 山田英孝、新村和也、陶弘、池田仁子、花岡知之、津金昌一郎、常吉俊宏、梶村春彦. CDH1 遺伝子の遺伝子多型と胃癌リスクとの関連 第 64 回 日本癌学会総会 (札幌)
- 53) 高松玲佳、安仁屋洋子、吉見直己、沖縄産ベニバナポリゴク誘導型一酸化窒素合成酵素 (iNOS) に及ぼす影響、第 32 回日本トキシコロジー学会学術年会、東京 (2005 年 6 月)

H. 特許取得状況

(1) 特許取得

発明者 梶村 春彦
 特願 2006-59424 パラフィン切片保存シート
 国際共同研究で病理切片の交換や送付に便利である

特許出願中

「癌細胞増殖抑制剤」 (特願 2005-15915)

(2) 実用新案登録

なし

(3) その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（国際医学協力研究事業）
（分担）研究報告書

新規変異原・がん原物質の検索

分担研究者 若林 敬二 国立がんセンター研究所 副所長

研究要旨 河川水中の強変異原物質である PBTA 化合物の非塩素化誘導体(non-C1PBTA-2, -3, -4 及び-7)が静岡県の染色工場地域を流れる河川水から検出された。これら化合物は PBTA と同様に染色過程でアゾ色素から生成し河川水中に放出されたと思われる。

A. 研究目的

がんは遺伝子の病気であり、その発生には多くの遺伝子変化が関与している。がん発生の原因となる遺伝子変化を引き起こすものには多くの外的及び内的要因があり、中でも喫煙、食事性要因及び感染症が大きな役割を果たしていることが指摘されている。これらの要因に加えて、遺伝的背景も発がんに多大な影響を及ぼしている。しかしながら、どのような変異原・がん原物質がヒトのがん関連遺伝子の変異や発現異常に関与しているかについてはほとんど判っていない。新規環境変異原・がん原物質の分離同定は一次予防の観点から重要な研究課題である。また、これら変異原物質の環境中の分布の程度についても明らかにすることがヒトの曝露レベルを考える上で必要である。そこで我々は河川水中に存在する新規変異原物質に注目し、分離同定を試みた。

B. 研究方法

浜松市内を流れる芳川河川中の変異原物質をブルーレーヨンを用いて吸着、濃縮した。吸着成分をメタノール/アンモニアで溶出し、減圧蒸溜乾固した後、各種カラムを用いたクロマトグラフィーにより変異原物質を分離・精製した。単離した変異原物質の構造の同定は LC-MS 解析及び別途合成により行った。また、これら河川水中の新規変異原物質の突然変異原性についても検討した。

C. 研究結果

芳川河川水抽出物は YG1024 株に対し、S9 mix 存在下において強い変異原性を示した。LH-20 カラムを用いて分画したところ、Kd 値 1.50~2.75 の画分が強い活性を示した。この画分を ODS-AM カラムを用いた HPLC で分画し、強変異原性画分 Fr. 15, 21, 36 を得た。Fr. 21 を Phenyl-Hexyl カラムを用いた HPLC で分画した結果、変異原性活性本体である化合物が単離され、その化合物は HPLC における保持時間、UV 吸収スペクトルおよび MS から塩素非置換の PBTA-2 (nonC1-PBTA-2)

と同定された。また、Fr. 15 および 36 についても同様に検討を行い、Fr. 15 中から nonC1-PBTA-3 および-4 を、Fr. 36 から nonC1-PBTA-7 を主要な変異原性物質として単離・同定した。これら nonC1-PBTA 化合物類のうち、nonC1-PBTA-3 および nonC1-PBTA-7 は YG1024 に株に対して非常に強い変異原性を示した。しかし、これら変異原性はその塩素置換体である PBTA-3 及び PBTA-7 に比べてそれぞれ 19 及び 8 倍低いことがわかった。(表 1)

Table 1 Mutagenicities of non-C1PBTA and PBTA congeners toward *S.nyphimurium* strains with S9 mix.

Compound	Numbers of revertants per microgram*			
	TA98	TA100	YG1024	YG1029
non-C1PBTA-3	1,060	36	159,000	640
non-C1PBTA-7	1,520	512	178,000	1,100
PBTA-3	81,000 ^b	N/A ^c	3,000,000 ^b	N/A
PBTA-7	43,000 ^b	393 ^c	1,430,000 ^b	648 ^c

*The mutagenicities of samples were calculated from linear portions of the dose-response curves in two independent experiments.

^bFrom reference [9].

^cFrom reference [12].

^dN/A: not available

D. 考察

芳川河川中の変異原物質として、non-C1PBTA-2, -3, -4 及び-7 を分離・同定した。このうちの nonC1-PBTA-3 および nonC1-PBTA-7 は YG1024 株に対して強い変異原性を示した。しかし、これら変異原性はその塩素置換体である PBTA-3 及び PBTA-7 に比べて低いことから、塩素原子が変異原性の増強に関与していると思われる。その理由として、塩素原子が存在する事により、化合物の脂溶性が増し、細胞内への取込みが上昇することから、塩素非置換の nonC1-PBTA-3 および nonC1-PBTA-7 では変異原活性が塩素置換体のそれらと比較して減少することが示唆された。

また、これらの nonC1-PBTA は染色工場などにおいて対応するアゾ染料から生成し、河川中に排出されたものと考えられる。

E. 結論

河川中の強変異原物質である PBTA 化合物の非塩素化誘導体 (non-ClPBTA-2, -3, -4 及び-7) が静岡県染色工場地域を流れる河川水から検出された。これら化合物は PBTA と同様に染色過程でアゾ色素から生成し、河川中に放出されたと思われる。

F. 健康危険情報

該当しない

G. 研究論文

1. 論文発表

- 1) Watanabe T, Hasei T, Takahashi T, Asanoma M, Murahashi T, Hirayama T, Wakabayashi K. Detection of a novel mutagen, 3,6-dinitrobenzo[e]pyrene, as a major contaminant in surface soil in Osaka and Aichi prefectures, Japan. Chem Res Toxicol. 18:283-289, 2005.
- 2) Totsuka Y, Nishigaki R, Enomoto S, Takamura-Enya T, Masumura K, Nohmi T, Kawahara N, Sugimura T, Wakabayashi K. Structures and biological properties of DNA adducts derived from N-nitroso bile acid conjugates. Chem Res Toxicol. 18:1553-1562, 2005.
- 3) Takamura-Enya T, Mano N, Kawahara N, Goto J, Wakabayashi K. Formation of DNA adducts with cholyl adenylate, a putative intermediate for biosynthesis of cholyl-CoA. Chem Res Toxicol. 18:1715-1720, 2005.

2. 学会発表

- 1) 戸塚ゆ加里、西垣玲奈、高村岳樹、杉村隆、若林敬二、N-ニトロソ胆汁酸抱合体より生成される DNA 付加体の構造解析、第 64 回日本癌学会総会、札幌、(2005 年 9 月)
- 2) 高村岳樹、石川さと子、望月正隆、杉村隆、若林敬二、変異・がん原性アミノ、ニトロ芳香族化合物の DNA 付加体の効率的合成法、第 64 回日本癌学会総会、札幌、(2005 年 9 月)
- 3) 西垣玲奈、戸塚ゆ加里、牛山博文、後藤純雄、杉村隆、若林敬二、ヒト尿中の aminophenylnorharman (APNH) の検出、第 64 回日本癌学会総会、札幌、(2005 年 9 月)
- 4) 大江武、水野智子、戸塚ゆ加里、高村岳樹、小田美光、若林敬二、N-hydroxyaminophenylnorharman の染色体異常誘発能及び突然変異スペクトル、日本環境変異原学会

第 34 回大会、東京、(2005 年 11 月)

- 5) 戸塚ゆ加里、西垣玲奈、榎本茂樹、高村(塩谷)岳樹、増村健一、能美健彦、杉村隆、若林敬二、N-ニトロソタウロコール酸より生成される DNA 付加体の構造解析、日本環境変異原学会第 34 回大会、東京、(2005 年 11 月)
- 6) 高村岳樹、眞野成康、川原信夫、後藤順一、若林敬二、胆汁酸アデニレートより生成する DNA 付加体の解析、日本環境変異原学会第 34 回大会、東京、(2005 年 11 月)
- 7) 渡辺徹志、長谷井友尋、麻野間正晴、若林敬二、平山晃久、大阪府及び愛知県の表層土壌中の主要な変異原物質の同定、日本環境変異原学会第 34 回大会、東京、(2005 年 11 月)
- 8) 麻野間正晴、寺田久屋、田村征男、高橋和彦、渡辺徹志、平山晃久、寺尾良保、塩澤竜志、糠谷東雄、高村岳樹、若林敬二、中部地方における河川水中の変異原の分離・同定、日本環境変異原学会第 34 回大会、東京、(2005 年 11 月)

DNA 変異を指標にした発がん及び発がん抑制要因の検索と作用機構の解明に関する研究

（分担）研究者 能美 健彦 国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部 室長

研究要旨 環境因子によって誘発される多様な損傷の乗り越え（トランスリージョン DNA 合成）に、複数の DNA ポリメラーゼがどのような役割をはたすのかを検討するため、環境発がん物質のスクリーニングに汎用されるサルモネラ TA1538 株の持つ 3 種類の損傷乗り越え型 DNA ポリメラーゼ遺伝子を系統的に破壊し、その変異原に対する感受性を比較した。その結果(1)DNA 損傷の違いにより異なった DNA ポリメラーゼが損傷乗り越えに関与すること(2)複数の DNA ポリメラーゼが損傷乗り越えに関わる場合があること(3)複製型の DNA ポリメラーゼも損傷乗り越えに関与することが示唆された。

A. 研究目的

ヒトは多様な環境因子に曝露されており、この多様な環境因子とゲノムとの相互作用が「がん」発症の大きな要因と考えられる。近年、DNA 損傷部位を乗り越えて複製を進める新しいタイプの DNA ポリメラーゼが見いだされ、その変異誘発作用（誤りがちな損傷部位の乗り越え DNA 合成）と発がんとの関連に関心が集まっている。ヒトには 16 種類以上の DNA ポリメラーゼが存在するが、その半数以上は損傷部位を乗り越えて進む、いわゆるトランスリージョン DNA 合成に関与することが示唆されている。一般に染色体複製に関わる DNA ポリメラーゼは損傷部位で進行を停止し、新しいタイプの DNA ポリメラーゼが損傷部位でのトランスリージョン DNA 合成を行い、その後再び複製型の DNA ポリメラーゼが DNA 合成を担当して染色体複製を継続すると考えられており、複製型 DNA ポリメラーゼ自身が損傷部位を乗り越えて変異を誘発する可能性は少ないと考えられている。だがこうした考えは紫外線などの限られた環境因子に関する研究に基づいており、多様な DNA 損傷に対するポリメラーゼの役割については不明な点が多い。今年度は、環境因子によって形成される多様な損傷の乗り越えに、複数の DNA ポリメラーゼがどのような役割をはたしているかを検討することを目的とする。

B. 研究方法

環境発がん物質のスクリーニングに多用される *Salmonella typhimurium*（以下サルモネラと略）TA1538 株の持つ 3 種類の損傷乗り越え型 DNA ポリメラーゼ(DNA polymerase II, IV, V、以下 Pol II, Pol IV, Pol V と略)の遺伝子を系統的に破壊し、遺伝子破壊株の 26 種類の変異原に対する感受性を比較することで、各 DNA ポリメラーゼの損傷乗り越えにおける役割を検討した。

C. 研究結果

26 種類の化合物は遺伝子欠損株に対する変異誘発性にに基づき 4 つのグループに分けられた。第一のグループは、Pol IV 遺伝子を破壊すると変異原性が三重欠損株(Δ Pol II, Δ Pol IV, Δ Pol V)と同レベルまで減弱した化合物であり、この中には benzo[a]pyrene (BP)など計 5 化合物が含まれた。第二のグループは、Pol IV あるいは Pol V 遺伝子を破壊すると変異原性が三重欠損株と同レベルまで減弱した化合物であり、この中には 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)など計 4 化合物が含まれた。このグループに含まれる化合物のうち 3-methylcholanthrene (3-MC), benzo[a]pyrene 7,8-tetrahydroepoxide (BP 7,8-tetrahydroepoxide)については Pol II 遺伝子を破壊しても三重欠損株と同じレベルまで変異原性が減弱した。第三のグループは Pol V 遺伝子を破壊すると三重欠損株と同レベルまで減弱した化合物であり、この中には 1,8-dinitropyrene (1,8-DNP)など計 4 化合物が含まれた。これらの化合物の変異原性は Pol II 遺伝子を破壊すると 30-60%減少した。第四のグループは、いずれの Pol 遺伝子を破壊しても変異原性が減弱しなかった化合物であり、この中には Glu-P-1 など計 13 化合物が含まれた。

D. 考察

サルモネラ TA1538 株は、変異のレポーター遺伝子である *hisD* 遺伝子内に CGCGCGCG という繰り返し配列を持っており、この配列内で起こる -2 欠失変異を効率よく検出することができる。したがって Pol 遺伝子の欠損によって変異原性が減弱した場合には、欠損させた Pol が繰り返し配列で起こる誤りがちトランスリージョン DNA 合成に関与するものと考えられることができる。今回得られた結果は、このホットスポット配列で起こる欠

失を伴うトランスリージョン DNA 合成には、損傷（変異原）の種類に応じて多様な DNA ポリメラーゼが関与することを示唆している。すなわち第一グループの化合物によって誘発される損傷（これは主にグアニンの N2 付加体と予想される）のトランスリージョン DNA 合成には Pol IV の関与が示唆される。第二のグループに属する化合物によって誘発される損傷のトランスリージョン DNA 合成には、Pol IV と Pol V の両者が必要とされることが示唆される。3-MC と BP

7,8-tetrahydroepoxide の場合には Pol II, Pol IV, Pol V が全てトランスリージョン DNA 合成に関与しているものと考えられる。作用機構の詳細は不明であるが、二種(Pol IV, Pol V)ないし三種の Pol (Pol II, Pol IV, Pol V)がそれぞれ異なった生化学的過程（例えばプライマー鎖の再合成、損傷乗り越え、プライマー鎖の伸長）に関与している可能性が考えられる。第三のグループに属する化合物については Pol V がトランスリージョン DNA 合成に関与することが示唆され、Pol II も補助的な役割をはたしているものと考えられる。第四のグループは、いずれの Pol 遺伝子を破壊しても変異原性が減弱しなかったことから、複製型のポリメラーゼ(DNA Pol III)がトランスリージョン DNA 合成に関与しているものと考えられる。

E. 結論

サルモネラ TA1538 株の DNA ポリメラーゼ遺伝子を系統的に破壊することにより(1)DNA 損傷の違いにより異なった DNA ポリメラーゼがトランスリージョン DNA 合成に関与すること(2)損傷の種類によっては複数の DNA ポリメラーゼがトランスリージョン DNA 合成に関わる場合があること(3)複製型の DNA ポリメラーゼもトランスリージョン DNA 合成に関与することが示唆された。

F. 健康危険情報

該当しない。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Matsui, K., Yamada, M., Imai, M., Yamamoto, K. and Nohmi, T. Specificity of replicative and SOS-inducible DNA polymerases in frameshift mutagenesis: Mutability of *Salmonella typhimurium* strains overexpressing SOS-inducible DNA polymerases to 30 chemical mutagens. DNA Repair, in press.
- 2) Sato, Y., Takahashi, S., Kinouchi, Y., Shiraki, M., Endo, K., Matsumura, Y., Kakuta, Y., Tosa, M., Motida, A., Abe, H., Imai, G., Yokoyama, H., Nomura, E., Negoro, K., Takagi, S., Aihara, H.,

Masumura, K., Nohmi, T. and Shimosegawa, T. IL-10 deficiency leads to somatic mutations in a model of IBD. Carcinogenesis, in press.

- 3) Yamada, M., Matsui, K. and Nohmi, T. Development of a bacterial hyper-sensitive tester strain for specific detection of the genotoxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons. Genes and Environ., 28: 23-30 (2006)
- 4) Mazaki, M., Kataoka, K., Kinouchi, T., Vinitketkumnuen, U., Yamada, M., Nohmi, T., Kuwahara, T., Akimoto, S. and Ohnishi, Y. Inhibitory effects of caraway (*Carum carvi* L.) and its component on N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine-induced mutagenicity. J. Med. Invest., 53: 123-133 (2006)
- 5) Asami, Y., Murakami, M., Shimizu, M., Pisani, F.M., Hayata, I. and Nohmi, T. Visualization of the interaction between archaeal DNA polymerase and uracil-containing DNA by atomic force microscopy. Genes to Cells, 11: 3-11 (2006)
- 6) Nishikawa, A., Sai, K., Okazaki, K., Son, H.Y., Kanki, K., Nakajima, M., Kinoue, N., Nohmi, T., Trosko, J.E., Inoue, T. and Hirose, M. MX, a by-product of water chlorination, lacks in vivo genotoxicity in *gpt* delta mice but inhibits gap junctional intercellular communication in rat WB cells. Env. Mol. Mutagen., 47: 48-55 (2006)
- 7) Miyazaki, M., Yamazaki, H., Takeuchi, H., Saoo, K., Yokohira, M., Masumura, K., Nohmi, T., Funae, Y., Imaida, K. and Kamataki, T. Mechanisms of chemopreventive effects of 8-methoxypsoralen against 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone-induced mouse lung adenomas. Carcinogenesis, 26: 1947-1955 (2005)
- 8) Totsuka, Y., Nishigaki, R., Enomoto, S., Takamura-Enya, T., Masumura, K., Nohmi, T., Kawahara, N., Sugimura, T. and Wakabayashi, K. Structures and biological properties of DNA adducts derived from N-nitroso bile acid conjugates. Chem. Res. Toxicol. 18: 1553-1562 (2005)
- 9) Kim, S.-R., Kokubo, K., Matsui, K., Yamada, N., Kanke, Y., Fukuoka, M., Yamada, M. and Nohmi, T. Light-dependent mutagenesis by benzo[a]pyrene is mediated via oxidative DNA damage. Env. Mol. Mutagen., 46: 141-149 (2005)
- 10) Satou, K., Yamada, M., Nohmi, T., Harashima, H. and Kamiya, H. Mutagenesis induced by oxidized DNA precursors: roles of Y-family DNA polymerases in *Escherichia coli*. Chem. Res. Tox., 18: 1271-1278 (2005)
- 11) Hashimoto, A., Amanuma, K., Hiyoshi, K., Takano, H., Masumura, K., Nohmi, T. and Aoki, Y. *in vivo* mutagenesis caused by benzo[a]pyrene instilled into the lung of *gpt* delta transgenic mice. Env. Mol. Mutagen., 45: 365-373 (2005)

- 12) Shibata, A., Kamada, N., Masumura, K., Nohmi, T., Kobayashi, S., Teraoka, H., Nakagama, H., Sugimura, T., Suzuki, H. and Masutani, M. *Parp-1* deficiency causes an increase of deletion mutations and insertions/rearrangements *in vivo* after treatment with an alkylating agent. *Oncogene*, 24: 1328-1337 (2005)
- 13) Kanki, K., Nishikawa, A., Masumura, K., Umemura, T., Imazawa, T., Kitamura, Y., Nohmi, T. and Hirose, M. *In vivo* mutational analysis of liver DNA in *gpt delta* transgenic rats treated with the hepatocarcinogens N-nitrosopyrrolidine, 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline, and di(2-ethylhexyl)phthalate. *Mol. Carcinog.*, 42: 9-17 (2005)
- 14) Kokubo, K., Yamada, M., Kanke, Y. and Nohmi, T. Roles of replicative and specialized DNA polymerases in frameshift mutagenesis: mutability of *Salmonella typhimurium* strains lacking one or all of SOS-inducible DNA polymerases to 26 chemicals. *DNA Repair*, 4: 1160-1171 (2005)
- 15) Nohmi, T., Kim, S.-R. and Yamada, M. Modulation of oxidative mutagenesis and carcinogenesis by polymorphic forms of human DNA repair enzymes. *Mutat. Res.*, 591: 60-72 (2005)
- 16) Nohmi, T. and Masumura, K. Molecular dissection of *in vivo* DNA rearrangements induced by radiation and chemical mutagens. *International Congress Series (High Levels of Natural Radiation and Radon Areas: Radiation Dose and Health Effects)*, 1276: 25-28 (2005)
- 17) Nohmi, T. and Masumura, K. Molecular natural of intra-chromosomal deletions and base substitutions induced by environmental mutagens. *Environ. Mol. Mutagen.*, 45: 150-161 (2005)
- analysis of DNA adducts formed from N-nitrosotaurocholic acid (NO-TCA), 日本環境変異原学会第34回大会、東京 (2005年11月)
- 5) Sakamoto, Y., Masumura, K., Ikeda, M., Hirata, A., Tsukamoto, T., Tatematsu, M. and Nohmi, T. Mutational analyses of p53 deficient *gpt delta* transgenic mice treated with N-bis(2-hydroxypropyl) nitrosamine (DHPN) and 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ), 日本環境変異原学会第34回大会 (2005年11月)
- 6) Yamada, M., Matsui, K. and Nohmi, T. Development of bacterial tester strains to detect the mutagenicity of polycyclic aromatic hydrocarbons sensitively and specifically, 日本環境変異原学会第34回大会、東京 (2005年11月)
- 7) Sui, H., Kawakami, K., Ohyama, N., Hara, T. and Nohmi, T. Further improvement of high-throughput fluctuation Ames test (FAT): the effects of *dinB* plasmid (IV), 日本環境変異原学会第34回大会、東京 (2005年11月)
- 8) Nishigaki, R., Totsuka, Y., Mori, Y., Masumura, K., Nohmi, T., Sugimura, T. and Wakabayashi, K. Analysis of N-nitroso-bis(2-oxopropyl)amine (BOP) and its metabolites in pancreatic juice of Syrian golden hamsters treated with BOP, 日本環境変異原学会第34回大会、東京 (2005年11月)
- 9) Horiguchi, M., Aoe, S., Tanaka, C., Tutuki, H., Yamada, M., Matui, K., Nohmi, T. and Ikegami, S. Evaluation of inhibitory effects of food components on genotoxicity of chemicals by Ames test, 日本環境変異原学会第34回大会、東京 (2005年11月)
- 10) Masumura, K., Ikeda, M., Sakamoto, Y., Wang, B., Neno, M., Sakuma, K., Hayata, I. and Nohmi, T. Effect of low dose-rate gamma-irradiation on 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) induced mutagenesis in *gpt delta* mice, 日本環境変異原学会第34回大会、東京 (2005年11月)
- 11) Sakamoto, Y., Masumura, K., Ikeda, M., Hirata, A., Tsukamoto, T., Tatematsu, M. and Nohmi, T. Mutational analysis of p53 deficient *gpt delta* mice treated with N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine and 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline, 日本環境変異原学会第34回大会、東京 (2005年11月)
- 12) Matsui, K., Yamada, M., Imai, M., Yamamoto, K. and Nohmi, T. Specificity of replicative and SOS-inducible DNA polymerases in frameshift
2. 学会発表
- 1) 日高勝彦、山田雅巳、紙谷浩之、益谷央豪、原島秀吉、花岡文雄、能美健彦、DNAポリメラーゼηによる酸化損傷dNTP取り込みで生ずる突然変異の特徴、第28回日本分子生物学会年会、福岡、(2005年12月)
- 2) 山田雅巳、松井恵子、今井勝、山本和生、能美健彦、DNAポリメラーゼのヒエラルキー、第28回日本分子生物学会年会、福岡、(2005年12月)
- 3) Hashimoto, A.H., Amanuma, K., Masumura, K., Nohmi, T. and Aoki, Y. *In vivo* mutagenicity of diesel exhaust inhalation in the testis of *gpt delta* mice, 日本環境変異原学会第34回大会、東京 (2005年11月)
- 4) Totsuka, Y., Nishigaki, R., Enomoto, S., Takamura-Enya, T., Masumura, K., Nohmi, T., Sugimura, T. and Wakabayashi, K. Structural

- mutagenesis: Mutability of *Salmonella typhimurium* strains overexpressing SOS-inducible DNA polymerases to 30 chemical mutagens, 日本環境変異原学会第34回大会、東京 (2005年11月)
- 13) 増村健一、坂元康晃、池田 恵、平田暁大、塚本徹哉、立松正衛、能美健彦、p53欠損 *gpt delta* マウスにおける N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine 誘発突然変異の解析、第64回日本癌学会学術総会、札幌 (2005年9月)
 - 14) 神吉けい太、西川秋佳、梅村隆志、増村健一、石井雄二、黒岩有一、児玉幸夫、能美健彦、広瀬雅雄、p53^{-/-}/*gpt delta* マウス肝臓におけるアクロレイン経口投与による *in vivo* 遺伝子変異の検索、第64回日本癌学会学術総会、札幌 (2005年9月)
 - 15) 柴田淳史、能美健彦、寺岡弘文、中釜 斉、杉村 隆、鈴木 宏志、益谷美都子、Parp-1 欠損マウスの加齢個体における自然突然変異の解析、第64回日本癌学会学術総会、札幌 (2005年9月)
 - 16) 梅村隆志、神吉けい太、黒岩有一、石井雄二、岡野圭太、能美健彦、西川秋佳、広瀬雅雄、ラット腎発がん剤臭素酸カリウム (KBrO₃) による酸化DNA損傷、*in vivo* 変異原性およびイニシエーション活性、第64回日本癌学会学術総会、札幌 (2005年9月)
 - 17) 西川秋佳、神吉けい太、梅村隆志、増村健一、石井雄二、黒岩有一、児玉幸夫、能美健彦、広瀬雅雄、Pentachlorophenol 投与マウス肝臓における遺伝子突然変異の解析、第64回日本癌学会学術総会、札幌 (2005年9月)
 - 18) 能美健彦、SOS DNAポリメラーゼ：環境とゲノム進化を結ぶ架け橋、第7回日本進化学会大会、仙台 (2005年8月)
 - 19) 能美健彦、ハイ・スループット遺伝毒性試験系の構築、第32回日本トキシコロジー学会学術年会、東京 (2005年6月)
 - 20) Nohmi, T. Roles of multiple DNA polymerases in mutagenic bypass of DNA lesions by various environmental chemicals. Gordon Research Conference "DNA damage, mutation and cancer", Ventura, U.S.A., (March 2006)
 - 21) Nohmi, T. Environmental mutagenesis: from molecules to man. 9th International Conference on Environmental Mutagens (9th ICEM). San Francisco, U.S.A., (September 2005)
 - 22) Satou, K., Yamada, M., Nohmi, T., Harashima, H. and Kamiya, H. Roles of the *Escherichia coli* DinB and UmuDC proteins in mutations induced by oxidized DNA precursors. 9th International Conference on Environmental Mutagens (9th ICEM). San Francisco, U.S.A., (September 2005)
 - 23) Totsuka, Y., Takamura, T., Enomoto, S., Nishigaki, R., Kawahara, N., Masumura, K. and Nohmi, T., Sugimura, T. and Wakabayashi, K. Structures of DNA adducts derived from N-nitrosotaurocholic acid. 9th International Conference on Environmental Mutagens (9th ICEM). San Francisco, U.S.A., (September 2005)
 - 24) Shibata, A., Nohmi, T., Teraoka, H., Nakagama, H., Sugimura, T., Suzuki, H. and Masutani, M. Increased mutations in *Parp-1* knockout mice after treatment with an alkylating agent and with aging. 9th International Conference on Environmental Mutagens (9th ICEM). San Francisco, U.S.A., (September 2005)
 - 25) Kokubo, K., Yamada, M., Kanke, Y. and Nohmi, T. Roles of replicative and specialized DNA polymerases in frameshift mutagenesis: mutability of *Salmonella typhimurium* strains lacking one or all of SOS-inducible DNA polymerases to 26 chemicals. 9th International Conference on Environmental Mutagens (9th ICEM). San Francisco, U.S.A., (September 2005)
 - 26) Aoki, Y., Hashimoto, A., Amanuma, K., Hiyoshi, K., Yanagisama, T., Takano, H., Masumura, K. and Nohmi, T. *in vivo* mutagenicity of diesel exhaust and its components, benzo(a)pyrene and 1,6-dinitropyrene in the lungs of *gpt delta* mice. 9th International Conference on Environmental Mutagens (9th ICEM). San Francisco, U.S.A., (September 2005)
 - 27) Masumura, K., Hoshino, M., Yatagai, F., Ochiai, M., Nakagama, H. and Nohmi, T. Non-homologous end-joining in X-ray-irradiated *scid/gpt delta* transgenic mouse. 9th International Conference on Environmental Mutagens (9th ICEM). San Francisco, U.S.A., (September 2005)
 - 28) Takeiri, A., Mishima, M., Tanaka, K., Shioda, A., Harada, A., Watanabe, K., Deki, T., Masumura, K. and Nohmi, T. Molecular characterization of cisplatin and transplatin-induced base substitutions and deletion mutations in newly established *gpt delta* L1 cells. 9th International Conference on Environmental Mutagens (9th ICEM). San Francisco, U.S.A., (September 2005)
 - 29) Nakagama, H., Ochiai, M., Shibata, A., Masumura, K., Nohmi, T., Sugimura, T. and Masutani, M. *in vivo* mutation spectrum in *gpt delta* transgenic mice after treatment with alkylating agents under *Parp-1*-deficient and *DNA-PKcs*-deficient conditions. 9th International Conference on Environmental Mutagens (9th ICEM). San Francisco, U.S.A., (September 2005)
 - 30) Hayashi, H., Shindo, Y. and Nohmi, T.

Carcinogenic risk estimation of organ specific mutagenicity induced by phenacetin using *gpt* delta transgenic rats. 9th International Conference on Environmental Mutagens (9th ICEM). San Francisco, U.S.A., (September 2005)

- 31) Nohmi, T. Y-family DNA polymerases in archaea and eubacteria, and their roles in genome maintenance. Gordon Research Conference "Archaea: Ecology, Metabolism and Molecular Biology", Oxford, U.K., (August 2005)