

厚生労働科学研究費補助金
食品の安全性高度化推進研究事業

天然添加物の発がん性等に関する研究
平成17年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 鰐渕 英機

平成18（2006）年 3月

目 次

I. 総括研究報告

天然添加物の発がん性等に関する研究 ----- 1

鰐渕 英機（大阪市立大学大学院医学研究科 教授）

II. 分担研究報告

1. プロポリスの発がん性等に関する研究 ----- 13

鰐渕 英機（大阪市立大学大学院医学研究科 教授）

2. キダチアロエの発がん性等に関する研究 ----- 86

今井田 克己（香川大学医学部腫瘍病理学 教授）

3. カテキンの発がん性等に関する研究 ----- 123

中江 大（東京都健康安全研究センター 参事研究員）

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 162

天然添加物の発がん性等に関する研究

主任研究者：鰐淵 英機 大阪市立大学大学院医学研究科助教授

研究要旨

本研究では安全性評価の確立していない天然添加物（既存添加物）の長期曝露の安全性を評価するため、変異原性が疑陽性以上であり、平成 14 年度までに 90 日反復投与毒性試験等が施行された 3 品目（プロポリス抽出物、キダチアロエ抽出物、カテキン）を選び、1 年間慢性毒性試験および発がん性試験をラットに施行し、3 年間かけてその安全性を評価することとした。特にこれらの既存添加物は、近年の健康食品ブームのなかで、大量に長期に摂取されるようになって来たため、早急に安全性の評価が必要と考えられ選定された。実験に用いたラットはいずれも BrlHan:WIST@Jc1 (GALAS) ラット雌雄である。本研究で得られた研究成果は下記の通りである。

- 1) プロポリスの発がん性について検索を開始した。試験用量は、平成 14 年度までに施行された 1 年間慢性毒性試験の結果を参考に 2.5%、0.5%および対照群とした。プロポリス粉末（アピ株式会社供与）を入手し、検体の飼料への添加、安定性を検索した結果、固形飼料への成形の過程で、成分のばらつきや減少が見られたため、粉末飼料での投与と決定した。一般状態に関して、対照群ラットに比べて、0.5%プロポリス投与群の雄と 2.5%プロポリス投与群の雌ラットの生存率が有意に高いことが示された。体重の推移に関して、10 週から雌雄ともプロポリスの高用量投与群（2.5%）で体重増加の抑制が認められたが、生存率はむしろこれらの群で高く、毒性変化とは判断されなかった。また、2.5%投与群では雌で TG と総コレステロールの低下がみられた。病理組織学的解析から、対照群ラットの腫瘍の発生に比べて、散発的にプロポリス投与のラットにおいて、腫瘍発生の減少が見受けられることはあるものの、少なくとも発がん性を示す所見は見られなかった。以上より、プロポリスはラットにおいて発がん性は示さないと判断された。また、プロポリスの無毒性量 (NOEL) は雌では 0.5%で、雄では 2.5%と結論した。(鰐淵)
- 2) キダチアロエ抽出物の 1 年間慢性毒性試験および発がん性試験を施行した。キダチアロエ抽出物の投与用量は、発がん性試験では 4、0.8%および対照群、1 年間慢性毒性試験では、4、0.8、0.16%および対照群とした。雌雄とも 4%投与群で、下痢や軟便が認められ、摂水量の増加と体重増加の抑制が認められた。慢性毒性試験において、回盲部リンパ節に、重度の類洞の拡張が雌雄の 4.0%群に有意に認められた。発がん性試験において、雄の 4.0%群で大腸における腫瘍性病変発生の有意な増加が見られたが、これは下痢に伴う二次的なものであり、発がん性はないと判断された。回盲部リンパ節において類洞の拡張が雌雄 4.0 および 0.8%群で、腎臓において尿細管の色素沈着が雌雄 4.0 および 0.8%群でそれぞれ有意に増加していた。以上より、キダチアロエ抽出物の無毒性量 (NOEL) は飼料中濃度 0.16%(雄：88mg/kg/day、雌：110mg/kg/day)と結論された。(今井田)
- 3) カテキンの混餌投与による慢性毒性/発がん性併合試験を実施した。カテキン投与用量は、3、1.5、0.75、0.02%および対照群に設定した。慢性毒性・発がん性試験群いずれにおいても腫瘍の頻度、発生時期および悪性度などに投与の影響は認められなかった。慢性毒性試験においては、3.0%群の雌で、第 25 週以後に体重増加抑制（またはその傾向）を認めたが、被験物質の高濃度含有する飼料での長期飼育による栄養学的な不足の結果である可能性が考えられた。3.0%群では、雌雄とも摂食量が増加するか、その傾向を示したが、これも、被験物質の高濃度含有する飼料での長期飼育による栄養学的な不足の結果である可能性が考えられた。3.0%群では、雄の肝相対重量増加と小葉中心性肝細胞肥大を認めた。この変化は、カテキン投与による影響と判断されるが、肝において、CYP3A2 の誘導を認めた一方、細胞増殖亢進や前がん病変の増加を伴わないことより、適応反応であって悪影響でないものと判断した。以上より、カテキンに発がん性はないと判断された。また、カテキンの無毒性量 (NOEL) は雄では 1%、雌では 3%と結論した。(中江)

分担研究者

今井田 克己 香川大学医学部 教授
中江 大 (財) 佐々木研究所 部長

A. 研究目的

食品添加物の多くはヒトが長期にわたって摂取する可能性が高いことから、基本的な安全性が確立されていない天然添加物（既存添加物）につ

いての可及的速やかな安全性評価は食品衛生上急務と考えられる。本研究では、天然添加物（既存添加物）のなかで変異原性が疑陽性以上であり、90日間反復投与毒性試験が施行された品目の中から、3品目（プロポリス抽出物、キダチアロエ抽出物、カテキン）を選び、1年間慢性毒性試験および発がん性試験をラットに施行し、3年間かけてその安全性を評価することとした。特に、選定された3品目は、近年の健康食品ブームのなか、急速に消費されるようになり、長期曝露の安全性評価が待たれている。

B. 研究方法

1. プロポリス抽出物の発がん性に関する研究（鱈淵）

<被験物質並びに投与量>

プロポリス抽出物はアピ株式会社（岐阜市）から供与されたプロポリス粉末を使用した。プロポリス粉末は、ブラジル産を原材料とし、アルコールで溶解し不純物である花粉等の夾雑物を遠心分離により除去後、アルコールを除去し、デキストリン（粉末化剤）を50%加え粉末化したものである。

2年間発がん性試験に用いる投与量は、平成14年度までに施行された1年間慢性試験の結果等を参考にして、最高用量をプロポリス含量として2.5%とし、最低用量を0.5%とした。プロポリスはオリエンタルMF基礎飼料に規定量混ぜたものを検体として使用した。プロポリス粉末には50%のデキストリンが粉末化剤として添加されているため、添加飼料は（2.5%プロポリス+2.5%デキストリン）添加群、（0.5%プロポリス+2.5%デキストリン）添加群、対照群として2.5%デキストリン添加とした。被験物質の飼料への添加、固形化はオリエンタル酵母工業株式会社に依頼し、試験に供する。

プロポリスの飼料中含量および安定性を検索する指標として、*p*-クマル酸相当量、アルテピリンC、バッカリン、ドウルパニン測定した。すなわち、日本健康栄養食品協会のプロポリス規格基準として、HPLCの全ピーク面積を*p*-クマル酸として換算し、*p*-クマル酸相当量としている。また、アルテピリンC、バッカリン、ドウルパニンは、ブラジル産プロポリスの主要成分であり、抗癌作用を確認しているプレニル基を持つ桂皮酸誘導体である。これらを添加飼料作成の過程でサンプリングし、含量、安定性の検索をHPLC法にて行った。

<動物並びに飼育条件>

5週齢のBr1Han:WIST@Jc1 (GALAS)ラット雌雄各150匹を日本クレア株式会社から入手し、約1週

間の馴化飼育後、2年間発がん性試験に用いる。動物の飼育は大阪市立大学大学院医学研究科動物実験施設のバリアーシステムの動物室にて行い、室内の環境条件は温度 $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $60\pm 10\%$ 、12時間蛍光灯照明、12時間消灯の条件下で行う。動物はプラスチックケージに3匹ずつ飼育し、飲料水として、水道水を自由摂取させる。ケージおよびチップを週1回交換する。

<観察並びに検索方法>

食品添加物のがん原性試験法ガイドラインに準じて行う。観察並びに検索項目は以下の通りである。

[一般状態、体重、摂餌量]

全動物は、一般状態を毎日観察し、投与開始の6ヶ月後まで週1回体重および摂餌量を測定し、その後について1ヶ月に1回測定する。1日あたりのプロポリス摂取量(mg/kg/day)は、その結果より算出する。

[病理組織学的検査]

24か月の投与終了後に、それぞれ全生存例を安楽死させて詳細な剖検を行う。

剖検においては、以下に示す器官・臓器を採取し、下線を付したものについて重量を測定した後、全てを10%中性緩衝ホルマリン液により固定する。ただし、精巣および眼球については、必要に応じて適切な固定液を用いることがある。採取する器官・臓器は、リンパ節（頸部・腸間膜）・胸腔内大動脈・顎下腺・耳下腺・胸骨・大腿骨（骨髄を含む）・胸腺・気管・肺・心・甲状腺および上皮小体（固定後）・舌・食道・前胃・腺胃・十二指腸・小腸（空腸・回腸）・大腸（盲腸・結腸・直腸）・肝・脾・腎・副腎・膀胱・精囊・前立腺・精巣・精巣上体・卵巣および卵管・子宮・膈・脳・下垂体・坐骨神経・大腿筋・脊髄（頸部および腰部）・眼球およびハーダー腺・大腿骨・胸骨・頭蓋骨および鼻腔・その他の肉眼的異常部位である。

死亡例および瀕死による切迫屠殺例については、上記と同様に解剖し死因を究明するが、重量の測定は実施しない。切迫例については、可能な限り末梢血の塗抹標本作製する。

病理組織学的検索は、対照群および高用量群の全動物について、以下に示す器官・組織の固定標本から切り出しを行い、通常の方法でパラフィン包埋して薄切し、ヘマトキシリン/エオジン染色を施して鏡検する。該当する器官・臓器は、リンパ節（頸部・腸間膜）・胸腔内大動脈・顎下腺・耳下腺・胸骨・大腿骨（骨髄を含む）・鼻腔・胸腺・気管・肺・心・甲状腺および上皮小体・舌・食道・前胃・腺胃・十二指腸・小腸（空腸・回腸）・大腸（盲腸・結腸・直腸）・肝・脾・腎・副腎・膀胱・精囊・前立腺・精巣・精巣上体・卵巣および

卵管・子宮・膣・脳・下垂体・坐骨神経・大腿筋・脊髄(頸部および腰部)・眼球およびハーダー腺・その他の肉眼的異常部位である。その他の用量群の全動物については、胸腺・肺・肝・脾・腎・副腎・精巣・卵巣とその他の肉眼的異常部位および高用量群において投与に関連した異常が観察された器官・組織について、上述と同様の方法で病理組織学的検査を行なう。

〔統計学的解析〕

体重・摂餌量・臓器重量・血液学および血清生化学的検査結果については、ANOVA による解析を行い、群間に有意差が観察された場合に、Dunnettの方法で対照群と各被験物質投与群の間で検定を行なう。尿検査と病理組織学的検査結果については、Fischer の直接確率検定法を用いて統計学的解析を実施する。なお、腫瘍および前がん病変については、必要に応じて別途検定方法を選択して行う。

2. キダチアロエ抽出物の発がん性等に関する研究(今井田)

＜動物並びに飼育条件＞

5週齢のBrlHan:WIST@Jc1(GALAS)ラット雌雄各190匹づつを日本クレアから入手し、約1週間の馴化飼育後、雌雄150匹づつ、合計300匹を長期発がん性試験に、雌雄40匹づつ合計80匹を1年間慢性毒性試験に用いる。動物の飼育は香川大学動物実験施設のバリアーシステムの動物室にて行い、室内の環境条件は温度 $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $60\pm 10\%$ 、12時間蛍光灯照明、12時間消灯の条件下で行う。動物は全網ケージに5匹づつ飼育し、飲料水として、水道水を自由摂取させる。

＜被験物質並びに投与量＞

キダチアロエは日本粉末薬品株式会社(大阪市)から、提供されたものを用いた。このキダチアロエ原体をオリエンタルMF基礎飼料に規定量混ぜたものを検体として使用した。90日間反復投与毒性試験のデータに基づき、最高用量を4%として、以下公比5として、発がん性試験には4%、0.8%、0%を、1年間慢性毒性試験には、4%、0.8%、0.16%、0%の用量に設定した。

＜観察並びに検索方法＞

食品添加物のがん原性試験法ガイドラインならびに1年間反復投与毒性試験法ガイドラインに準じて行う。すなわち、6週齢の雌雄Wistar-Hanoverラットを用いて、被験物質を原則として1年間または2年間連続して混餌投与する。観察並びに検査項目は1.の鱈淵らに準じるが、1年間慢性毒性試験では、投与期間終了後、全生存動物を剖検し、血液学的、血液生化学的及び病理組織学的に検査する。血液学的検査として、赤血

球数、白血球数、血小板数、血色素量、ヘマトクリット値等を測定する。血液生化学的検査として、総蛋白、アルブミン、A/G比、コレステロール、中性脂肪、ビリルビン、尿素窒素、クレアチニン、AST、ALT、 γ -GTP、アルカリホスファターゼ、電解質等を測定する。

3. カテキンの発がん性等に関する研究(中江) ＜被験物質＞

緑茶カテキン(サンフェノン100S)は、太陽化学株式会社より供与された。

＜動物および飼育条件＞

動物は、BrlHan:WIST@Jc1(GALAS)ラット(日本クレア株式会社)雌雄各350匹を用い、5週齢にて入荷後に約1週間の検疫・馴化期間を置き、6週齢にて試験に供する。動物数は、12ヶ月間慢性毒性試験について1群当り雌雄各20匹、24ヶ月間発がん性試験について1群当たり雌雄各50匹を用いる。各群への動物の割り付けは、適切な無作為抽出法を用いて行う。動物は、バリエーション内の温度・湿度を制御した動物室内で飼育する。室内の環境は、温度 $25\pm 5^{\circ}\text{C}$ ・湿度 $50\pm 10\%$ ・換気回数12回/時・12時間/日照明の条件下とする。雄動物は最大3匹づつを、雌は最大4匹づつを、それぞれ、ソフトチップを敷いたポリカーボネイト製のプラスチックケージに収容し、ケージおよびチップを週1回交換する。飲料水は、水道水を自由摂取させる。

＜投与用量の設定＞

90日間反復毒性試験の結果に基き、本研究における慢性毒性/発がん性併合試験の投与用量は、3%、1.5%、0.75%に設定した。なお、本試験においては、カテキンが食品添加物として多くの食品に使用されている現実を踏まえ、ヒト摂取相当量での検索も必要であると考え、カテキンの1日当たりヒト摂取量に相当する0.02%を最低用量に設定した。

＜観察並びに検索方法＞

食品添加物のがん原性試験法ガイドラインならびに1年間反復投与毒性試験法ガイドラインに準じて行う。(1.の鱈淵ならびに2.今井田の項を参照)

C. 研究結果

1. プロポリス抽出物の発がん性に関する研究(鱈淵)

昨年度に引き続き、2年間発がん性試験の動物実験とその解剖後の解析がなされた。

一般状態および死亡率

104週剖検時点での雄生存率は第1, 2, 3群に対しそれぞれ86, 92, 86%であり、雌のそれは第

4, 5, 6 群に対しそれぞれ 68, 76, 88%であった。雄の 0.5%プロポリス投与ラットおよび 2.5%プロポリス投与雌ラットはそれぞれ、対照群に比べて生存率が有意に高いことが示された (P<0.05)。

体重、摂餌および飲水量変化

10 週からプロポリスの 2.5%投与雄ラットの体重は減少傾向、2.5%投与雌ラットの体重減少が認められた (P<0.01)。全投与群間の摂餌量及び摂水量に関しては有意な差は認められなかった。

最終体重についてはプロポリスの 2.5%投与雌ラット群では有意に減少していた。

摂餌量および飲水量は各群間で有意差は認めなかった。

血液分析

血算分析は各群間で有意差は認めなかった。血清化学分析は雌 2.5%プロポリス投与群でのトリグリセライド (TG) および総コレステロール (TCHO) 量が有意に低下していた。

剖検および病理学組織的検索

病理肉眼的検査において、途中死亡・切迫殺動物を含む全例において、投与に関連した肉眼所見は認められなかった。

病理組織学的検査について、プロポリス投与に関連した腫瘍性病変の発生率に関しては、すべての臓器・器官において高用量群において、対照群との間で有意な増加が認めなかった。非腫瘍性病変では雌雄とも投与に関連した非腫瘍性病変の増加は認められなかった。

一方、lymphoma/leukemia の発生率はプロポリス投与雄ラットで有意な減少が認められた。0.5%プロポリス投与群雄ラットの下垂体腫瘍 (腺腫, P<0.05)、または 2.5%プロポリス投与雌ラットの下垂体腫瘍 (癌腫, P<0.01) の発生率の有意な減少が認められた。

2. キダチアロエ抽出物の発がん性等に関する研究 (今井田)

一般状態および体重の推移

4%投与群で、雌雄とも下痢や軟便が認められ、摂水量の増加と、体重増加抑制が見られるものの、一般状態は良好に推移していた。慢性毒性試験では、雌の 4.0%群で、最終体重に対照群と比較して有意に低値を示した。その他の群では体重変化に有意差を認めなかった。2 年間発がん性試験では、雌雄とも 4.0%群で、対照群と比較して有意に低値を示した。

血液分析

慢性毒性試験において、雄の 4.0%群の白血球数の有意な高値が観察された。雌の 4.0%群と 0.8%群において、ヘモグロビン量が有意に低値を示した。雌の 0.8%群において、対照群と比較して、赤血球数と MCH, MCHC が有意に低値を示した。雄の 4.0%群と 0.8%群、雌の 4.0%群において対照群と比較して、IP の有意な低値が観察された。雌の 4.0%群で Ca, ALT の有意な低値が観察された。2 年間発がん性試験において、雌の 4.0%群の赤血球数、ヘモグロビン値、およびアルブミン値の有意な高値が観察された。雌の 4.0%において、ヘモグロビン量が有意に高値を示し、Na, K, Cl の有意な低値が見られた。

病理学組織的検索

慢性毒性試験において、回盲部リンパ節に、重度の類洞の拡張が雌雄の 4.0%群に有意に認められた。それ以外では、非腫瘍性病変、腫瘍性病変とも散発的に出現したが、投与に特異的な有意な病変は認められなかった。

発がん性試験において、結腸の腺腫あるいは腺癌の発生は雌雄の 4.0%群に観察されたが、対照群および 0.8%群において雌雄ともに観察されなかった。なお、結腸および直腸に発生した腺腫と腺癌を合計し、大腸の腫瘍性病変として集計した場合、雄の 4.0%群で大腸における腫瘍性病変発生の有意な増加が見られた。その他、各臓器において様々な腫瘍性病変が認められたが、対照群と同程度の発生率であった。非腫瘍性病変では、腸間膜リンパ節においては類洞の拡張が雌雄 4.0 および 0.8%群で、腎臓において尿細管の色素沈着が雌雄 4.0 および 0.8%群でそれぞれ有意に増加していた。

3. カテキンの発がん性等に関する研究 (中江)

カテキンの投与量を 3・1.5・0.75・0.02% および対照群に設定し、試験を開始した。

一般状態および死亡率

死亡率の推移および一般状態について、カテキン投与の影響を認めなかった。

体重、摂餌および飲水量変化

慢性毒性試験においては、雄で全期間に有意な群間差を認めなかったが、雌の 3.0%群にて第 25 週以降に増加抑制 (またはその傾向) が認められた。また、発がん性試験では、3.0%群の雌雄で第 52 週前より増加抑制 (またはその傾向) が観察された。摂食量は、3.0%群の雌雄で投与初期より増加 (またはその傾向) が持続して観察されたが、同群において餌のケージ内へのこぼしが顕著であった。

血液分析

赤血球関連指標には、群間の差を認めなかった。白血球分画では、0.3%群の雌で桿状核好中球の減少と3.0%群の雌で単球の増加を認めた。血清生化学的試験においては、0.3・3.0%群の雄でCREの減少、3.0%群の雌でA/Gの増加を認めた。

病理学組織的検索

3.0%群の雄で小葉中心性肝細胞肥大の発生を認めたほか、対照群を含む雌雄に各種の変化が観察された。肝におけるcytochrome P450系酵素(CYP)の誘導を免疫組織化学染色で確認したところ、CYP1A1・CYP1A2・CYP2B1は群間の変化を示さなかったが、CYP3A2は3.0%群の雄で小葉中心性に観察された肝細胞肥大に一致して発現が増強した。雌では投与に関連したCYPの誘導は認められていない。なお、proliferating cell nuclear antigen (PCNA)染色率と胎盤型グルタチオンS-トランスフェラーゼ(GST-P)陽性表現型をそれぞれ指標とした肝細胞増殖活性と肝前がん病変の免疫組織化学的検索は、いずれも群間に変化がない。投与に関連した腫瘍性変化の増加は認められなかった。1%以下の投与群において体重および肝に投与による影響はいずれの項目にも認められなかった。

D. 考察

天然添加物のプロポリス抽出物、キダチアロエ抽出物、カテキンの1年間慢性毒性試験および2年間発がん性試験を開始した。当初予定していた、F344ラット(F344/DuCrjラット・日本チャールズリバー)の入手が、ブリーダーである日本チャールズリバーの感染事故により長期間困難となった。そこで、急遽、現在世界標準化ラットとしての方向性を模索しているWistar-Hanoverラット: BrlHan:WIST@Jc1(GALAS)ラット(日本クレア株式会社)に注目し、使用することとなった。実験の開始が遅れて、計画に多少の支障が生じたが、結果として、今回用いるWistar-Hanoverラットの長期試験(1年または2年間)での自然発生腫瘍の頻度等、基礎的なデータが得られるものと期待される。今回は、対照群で下垂体腫瘍の発生が高く死亡の主な原因となっていたが、2年間の生存率は高く、また、F344ラットに見られるような精巣の腫瘍やリンパ腫の発生は高くなかった。今回、プロポリスのラット発がん性に関しては、投与による発がん性の増加は認められず、プロポリスにこのラットに対する発がん性はないと判断された。また、長期投与による2.5%投与雌雄において体重増加抑制がみられたが、生存率はむし

ろ投与群で高く、毒性変化とは判断しなかった。しかし、2.5%投与群では雌でTGと総コレステロールの低下がみられたため、雌の無毒性量は0.5%で、雄は2.5%と判断された。(鰐淵)

キダチアロエ抽出物の発がん性試験において、雄の4.0%群で大腸における腫瘍性病変発生の有意な増加がみられたが、これは下痢に伴う二次的なものであり、発がん性はないと判断された。また、回盲部リンパ節の類洞拡張及び腎尿管の色素沈着が雌雄4.0および0.8%群で増加していた。したがって、キダチアロエ抽出物の無毒性量は飼料中濃度0.16%(雄:88mg/kg/day、雌:110mg/kg/day)と結論された。(今井田)

ラットにカテキンをほぼ生涯にわたり投与しても悪影響となる毒性は認められず、発がん性ないと判断された。雄では3%の高濃度投与は適応性変化として肝臓の薬物代謝酵素誘導を起こす可能性が示された。したがって、無毒性量は雄では1%、雌では3%と結論した。(中江)

E. 結論

1) プロポリスの長期曝露の安全性評価のために2年間ラット発がん性試験を実施したが、発がん性は認められなかった。(鰐淵)

2) キダチアロエ抽出物の混餌投与による慢性毒性/発がん性試験の結果、キダチアロエ抽出物の無毒性量(NOEL)は飼料中濃度0.16%(雄:88mg/kg/day、雌:110mg/kg/day)と結論された。(今井田)

3) カテキンの混餌投与による慢性毒性/発がん性試験の結果、カテキンのNOELは、雄では1%、雌では3%と結論した。また、カテキンによる発がん性は認められなかった。(中江)

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Nishikawa, M., Wanibuchi, H., Morimura, K., Kinoshita, A., Nishikawa, T., Hayashi, S., Yano, Y. and Fukushima, S.: N-acetylcysteine and S-methylcysteine inhibit MeIQx rat hepatocarcinogenesis in the post-initiation stage. *Carcinogenesis*, 27, 982-988, 2005.

Wei, M., Morimura, K., Wanibuchi, H., Shen, J., Salim, E. I., Moku, M., Hakoi, K. and Fukushima, S.: JTE-522, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, inhibits induction but not growth

- and invasion of 1,2-dimethylhydrazine-induced tubular adenocarcinomas of colon in rats. *Int. J. Cancer*, 113, 354-358, 2005.
- Kuroda, K., Yoshida, K., Yoshimura, M., Endo, Y., Wanibuchi, H., Fukushima, S. and Endo, G.: Genotoxicity of dimethylarsinous acid: high induction of tetraploids. *Appl. Organometal. Chem.*, 19, 221-225, 2005.
- Kang, J.S., Morimura, K., Salim, E.I., Wanibuchi, H., Yamaguchi, S. and Fukushima, S.: Persistence of liver cirrhosis in association with proliferation of nonparenchymal cells and altered location of α -smooth muscle actin-positive cells. *Toxicol. Pathol.*, 33, 329-335, 2005.
- Kang, J.S., Wanibuchi, H., Morimura, K., Puatanachokchai, R., Salim, E.I., Hagihara, A., Seki, S. and Fukushima, S.: Enhancement by estradiol 3-benzoate in thioacetamide-induced liver cirrhosis of rats. *Toxicol. Sci.*, 85, 720-726, 2005.
- Fukushima, S., Wanibuchi, H., Morimura, K., Nakae, D., Tsuda, H., Imaida, K., Shirai, T., Tatematsu, M., Tsukamoto, T., Hirose, M., Furukawa, F.: Lack of potential of low dose *N*-nitrosodimethylamine to induce preneoplastic lesions, glutathione *S*-transferase placental form-positive foci, in rat liver. *Cancer Lett.*, 222, 11-15, 2005.
- Doi, K., Wanibuchi, H., Salim, E.I., Morimura, K., Kinoshita, A., Kudoh, S., Hirata, K., Yoshikawa, J. and Fukushima, S.: Lack of large intestinal carcinogenicity of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine at low doses in rats initiated with azoxymethane. *Int. J. Cancer*, 115, 870-878, 2005.
- Fukushima, S., Morimura, K., Wanibuchi, H., Kinoshita, A. and Salim, E.I.: Current and emerging challenges in toxicopathology: carcinogenic threshold of phenobarbital and proof of arsenic carcinogenicity using rat medium-term bioassays for carcinogens. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 207, S225-S229, 2005.
- Fukushima, S., Kinoshita, A., Puatanachokchai, R., Kushida, M., Wanibuchi, H. and Morimura, K.: Hormesis and dose-response-mediated mechanisms in carcinogenesis: evidence for a threshold in carcinogenicity of non-genotoxic carcinogens. *Carcinogenesis*, 26, 1835-1845, 2005.
- Murai, T., Mori, Y., Tatematsu, K., Koide, A., Hagiwara, A., Makino, S., Mori, S., Wanibuchi, H. and Fukushima, S.: Differences in susceptibility to *N*-butyl-*N*-(4-hydroxybutyl)nitrosamine-induced urinary bladder carcinogenesis between SD/gShi rats with spontaneous hypospermatogenesis and SD/cShi rats with spontaneous hydronephrosis. *Cancer Sci.*, 96, 637-644, 2005.
- Kushida, M., Sukata, T., Uwagawa, S., Ozaki, K., Kinoshita, A., Wanibuchi, H., Morimura, K., Okuno, Y. and Fukushima, S.: Low dose DDT inhibition of hepatocarcinogenesis initiated by diethylnitrosamine in male rats: Possible mechanisms. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 208, 285-294, 2005.
- Kushida, M., Wanibuchi, H., Morimura, K., Kinoshita, A., Kang, J. S., Puatanachokchai, R., Wei, M., Funae, Y and Fukushima, S.: Dose-dependence of Promotion of 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-*f*]quinoxaline-induced rat hepatocarcinogenesis by ethanol: Evidence for a threshold. *Cancer Sci.*, 96, 747-757, 2005.
- Morimura, K., Kang, J. S., Wei, M., Wanibuchi, H., Tsuda, H. and Fukushima, S.: Lack of urinary bladder carcinogenicity of sodium *L*-ascorbate in human *c-Ha-ras* proto-oncogene transgenic rats. *Toxicol. Pathol.*, 33, 764-767, 2005.
- Nishikawa, M., Wanibuchi, H., Morimura, K., Kinoshita, A., Nishikawa, T., Hayashi, S., Yano, Y. and Fukushima, S.: *N*-acetylcysteine and *S*-methylcysteine inhibit MeIQx rat hepatocarcinogenesis in the post-initiation stage. *Carcinogenesis*, 27, 982-988, 2005.
- Hagiwara, A., Murai, T., Miyata E., Nabae, K., Doi, Y., Yoshino, H., Ichihara, T., Mori, S.

- and Fukushima, S. : Influence of strain and diet on hepatocarcinogenicity of N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN) in rats: slight inhibition of preneoplastic liver lesion development by uracil. *J. Toxicol. Pathol.*, 18, 105-110, 2005.
- Wei, M., Hori, T., Wanibuchi, H., Morimura, K., Kang, J.S., Puatanachokchai, R. and Fukushima, S. : Existence of no-observed effect levels for 2-amino-3, 8-dimethylimidazo[4, 5-f]quinoxaline on hepatic preneoplastic lesion development in BN rats. *Cancer Letters*, 231, 304-308, 2006.
- Romanenko, A., Morimura, K., Kinoshita, A., Wanibuchi, H., Vozianov, A. and Fukushima, S. : Aberrant expression of E-cadherin and β -catenin in association with transforming growth factor- β 1 in urinary bladder lesions in humans after the Chernobyl accident. *Cancer Sci.*, 97, 45-50, 2006.
- Shen, J., Wanibuchi, H., Waalkes, M. P., Salim, E. I. Kinoshita, A., Yoshida, K., Endo, G. and Fukushima, S. : A comparative study of the sub-chronic toxic effects of three organic arsenical compounds on the urothelium in F344 rats; gender-based differences in response. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 210, 171-180, 2006.
- Kang, J. S., Morimura, K., Toda, C., Wanibuchi, H., Wei, M., Kojima, N. and Fukushima, S. : Testicular toxicity of DEHP, but not DEHA, is elevated under conditions of thioacetamide-induced liver damage. *Reproductive Toxicology*, 21, 253-259, 2006.
- Romanenko, A. M., Kinoshita, A., Wanibuchi, H., Wei, M., Zaporin, W. K., Vinnichenko, W. I., Vozianov, A. F. and Fukushima, S. : Involvement of ubiquitination and sumoylation in bladder lesions induced by persistent long-term low dose ionizing radiation in humans. *The Journal of Urology*, 175, 739-743, 2006.
- Hagihara, A., Wanibuchi, H., Puatanachokchai, R., Kang, J. S., Miyazi, N., Seki, S. and Fukushima, S. : Difference in sensitivity of F344 rats from different breeders to phenobarbital hepatocarcinogenicity. *J Toxicol Pathol*, 19, 29-36, 2006.
- Kang, J. S., Waniuchi, H., Morimura, K., Totsuka, Y., Yoshimura, I. and Fukushima, S. : Existence of a no effect level for MelQx hepatocarcinogenicity on background of thioacetamide-induced liver damage in rats. *Cancer Sci*, 97, 453-458, 2006.
- Kushida, M., Aiso, S., Morimura, K., Wei, M., Wanibuchi, H., Nagano, K. and Fukushima, S. : Absence of β -Catenin Alteration in Hepatic Tumors Induced by p-Nitroanisole in Crj:BDF1 Mice. *Toxicologic Pathology*, 34, 237-242, 2006.
- Wanibuchi, H., Wei, M., Karim, M. R., Morimura, K., Doi, K., Kinoshita, A. and Fukushima, S. : Existence of no hepatocarcinogenic effect levels of 2-amino-3, 8-dimethylimidazo [4, 5-f] quinoxaline with or without coadministration with ethanol. *Toxicologic Pathology*, 34, 232-236, 2006.
- Waddell, W. J., Fukushima, S. and Williams, G. M. : Concordance of thresholds for carcinogenicity of N-nitrosodierhylamine. *Arch Toxicol*, 80, 305-309, 2006.
- Uda, N., Kashimoto, N., Sumioka, I., Kyo, E., Sumi, S. and Fukushima, S. : Aged garlic extract inhibits development of putative preneoplastic lesions in rat hepatocarcinogenesis. *American Society for Nutrition*, 855S-860S, 2006.
- Kitano, M., Chen, Tian-Xin., Morimura, K., Wei, M., Hidaka, T., Hosoe, K. and Fukushima, S. : Biphasic increase of epithelial DNA synthesis in the urinary bladder of rats treated with a tumor promoter, sodium L-ascorbate. *J. Toxicol. Pathol*, 19, 53-56, 2006.
- Kitano, M., Wada, J., Ariki, Y., Kato, M., Wanibuchi, H., Morimura, K., Hidaka, T., Hosoe, T. and Fukushima, S. : Possible tumor development from double positive foci for TGF- α and GST-P observed in early stages on rat hepatocarcinogenesis. *Cancer Sci*, 97, 478-483, 2006.
- Mori, S., Murai, T., Wanibuchi, H., Hagihara, A., Puatanachokchai, P. and Fukushima, S. :

- Susceptibility of four F₁ hybrids of male rats to the promoting effects of sodium L-ascorbate in two-stage urinary bladder carcinogenesis. *J Toxicol Pathol.* 19, 87-91, 2006.
- Puatanachokchai, R., Morimura, K., Wanibuchi, H., Oka, M., Kinoshita, A., Fukui, M., Yamaguchi, S., Funae, Y. and Fukushima, S.: Alpha-benzene hexachloride exerts hormesis in preneoplastic lesion formation of rat hepatocarcinogenesis with the possible role for hepatic detoxifying enzymes. *Cancer Lett.*, 240, 102-113, 2006.
- Nakajima, Y., Endo, Y., Inoue, Y., Yamanaka, K., Kato, K., Wanibuchi, H. and Endo, G.: Ingestion of Hijiki seaweed and risk of arsenic poisoning⁺. *Appl Organometal Chem.*, 20, 557-564, 2006.
- Kinoshita, A., Wanibuchi, H., Wei, M. and Fukushima, S.: Hormesis in carcinogenicity of non-genotoxic carcinogens. *J. Toxicol. Pathol.*, 19, 111-122, 2006.
- Romanenko, A. M., Morimura, K., Kinoshita, A., Wanibuchi, H., Takahashi, S., Zaparin, W. K., Vinnichenko, W. K., Vozianov, A. F. and Fukushima S.: Upregulation of fibroblast growth factor receptor 3 and epidermal growth factor receptors, in association with Raf-1, in urothelial dysplasia and carcinoma in situ after the Chernobyl accident. *Cancer Sci.* 97, 1168-1174, 2006.
- Li JQ, Imaida K. Roles of immunohistochemical expression of cyclin A and cyclin-dependent kinase 2 in colorectal tumors. *Handbook of immunohistochemistry and in situ hybridization of human carcinomas, Vol. 2: Molecular pathology, colorectal carcinoma, and prostate carcinoma.* pp. 207-214, ed. Hayat, M.A., 2005, Elsevier Academic Press, London
- Shirai T, Kawabe M, Ichihara T, Fujiwara O, Taki M, Watanabe S, Wake K, Yamanaka Y, Imaida K, Asamoto M, Tamano S. Chronic exposure to a 1.439 GHz electromagnetic field used for cellular phones does not promote N-ethylnitrosourea induced central nervous system tumors in F344 rats. *Bioelectromagnetics.* 26: 59-68, 2005
- Ichihara T, Miyashita K, Kawabe M, Imaida K, Asamoto M, Ogiso T, Tamano S, Hirose M, Shirai T. Lack of combination hepatocarcinogenicity of harman, norharman and amitrole when given with NaNO₂ in the rat. *Journal of Toxicological Sciences,* 30: 1-6, 2005.
- Ichihara T, Tamano S, Yoshino H, Imaida K, Ishikawa H, Kakizoe T, Shirai T. Lack of chemoprevention or promotion effects of docosahexaenoic acid on small intestine, colon, liver, lung, thyroid, esophagus, kidney, and forestomach carcinogenesis in a rat medium-term multi-organ carcinogenesis model. *Journal of Toxicologic Pathology,* 18: 53-59, 2005.
- Zeng Y, Yokohira M, Takeuchi H, Sao K, Yamakawa K, Matsuda Y, Hosokawa, K, Imaida K. Lack of significant modifying effect of arctiin on prostate carcinogenesis in probasin/SV40 T antigen transgenic rats. *Cancer Letters,* 222: 145-151, 2005
- Zeng Y, Sao K, Yokohira M, Takeuchi H, Yamakawa K, Matsuda Y, J.Q. Li, Imaida K. Dietary D-psicose, a rare sugar, does not show any modifying effects in a medium-term liver carcinogenesis bioassay in F344 male rat. *J. Toxicol. Pathol.*, 18: 85-88, 2005.
- Zeng Y, Yokohira M, Sao K, Takeuchi H, Chen K, Yamakawa K, Matsuda K, Kakehi Y, Imaida K. Inhibition of prostate carcinogenesis in probasin/SV40 T antigen transgenic rats by raloxifene, an antiestrogen with anti-androgen action, but not nimesulide, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor *Carcinogenesis,* 26: 1109-1116, 2005.
- Fukushima S, Wanibuchi H, Morimura K, Nakae D, Tsuda H, Imaida K, Shirai T, Tatematsu M, Tsukamoto T, Hirose M, Furukawa F. Lack of potential of low dose N-nitrosodimethylamine to induce preneoplastic lesions, glutathione S-transferase placental form-positive foci, in rat liver. *Cancer Letters,* 222: 11-15, 2005.

Yokohira M, Takeuchi H, Yamakawa K, Saoo K, Ikeda M, Matsuda Y, Zeng Y, Hosokawa K, Maeta H, Imaida K. Establishment of a biological system for detection of lung toxicity due to fine particle instillation: Sequential histopathological changes with acute and subacute lung damage due to intratracheal instillation of quarts in F344 male rats. *Journal of Toxicologic Pathology*, 18: 13-18, 2005.

Takeuchi H, Saoo K, Matsuda Y, Yokohira M, Yamakawa K, Zeng Y, Miyazaki M, Fujieda M, Kamataki T, Imaida K. Dose dependent inhibitory effects of dietary 8-methoxypsoralen on NNK-induced lung tumorigenesis in female A/J mice. *Cancer Letters*, 2005

Matsuda Y, Saoo K, Hosokawa K, Yamakawa K, Yokohira M, Zeng Y, Takeuchi H, Iwai J, Shirai T, Obika K, Imaida, K. Epithelioid malignant peripheral nerve sheath tumor. Report of a case with inflammatory infiltration. *Pathology - Research and Practice*, 201:355-360, 2005.

今井田克己, 玉野静光, 萩原昭裕, 福島昭治, 白井智之, 伊東信行. 内分泌活性物質の発癌性作用および発癌修飾性検出のためのラット中期バイオアッセイの適用. 宮本純之, J. Burger (編), 内分泌活性物質のヒトおよび野生生物に及ぼす影響, pp. 779-783. 日本SCOPE委員会, 2005.

中江 大, 佐々木研究所における化学物質のリスク評価・管理に資する毒性病理学的研究 (1) コリン欠乏アミノ酸食投与ラット肝発がんモデルによる知見. *化学生物総合管理*, 2005, 1: 331-352.

Uematsu F, Takahashi M, Yoshida M, Igarashi M, Watanabe N, Suzuki N, Abe M, Rusyn I, Floyd RA and Nakae D, Distinct patterns of gene expression in hepatocellular carcinomas and adjacent non-cancerous, cirrhotic liver tissues in rats fed a choline-deficient, L-amino acid-defined diet. *Cancer Sci*, 2005, 96: 414-424.

Powell CL, Kosyk O, Bradford BU, Denda A, Uematsu F, Nakae D and Rusyn I, Temporal correlation of pathology and DNA damage with

gene expression in a choline deficient model of rat liver injury. *Hepatology*, 2005, 42: 1137-1147.

Kotake Y, Kishida H, Nakae D and Floyd RA, Nitric oxide production by primary liver cells isolated from amino acid-fed rats. *Methods Enzymol*, 2005, 396: 535-541.

Fukushima S, Wanibuchi H, Morimura K, Nakae D, Tsuda H, Imaida K, Shirai T, Tatematsu M, Tsukamoto T, Hirose M and Furukawa F, Lack of potential of low dose *N*-nitrosodimethylamine to induce preneoplastic lesions, glutathione *S*-transferase placental form-positive foci, in rat liver. *Cancer Lett*, 2005, 222: 11-15.

Shimomoto T, Yoshida M, Katsuda S, Takahashi M, Uematsu F, Kuniyasu H, Maekawa A and Nakae D, α -Smooth muscle actin-positive stromal cells reactive to estrogens surround endometrial glands in rats but not in mice. *J Toxicol Pathol*, 2005, 18: 47-52.

Sakurai T, Takei M, Ogasawara J, Watanabe N, Sanpei M, Yoshida M, Nakae D, Sakurai T, Nakano N, Kizaki T, Ohno H and Izawa T, Exercise training enhances tumor necrosis factor- α -induced expressions of anti-apoptotic genes without alterations in caspase-3 activity in rat epididymal adipocytes. *Jpn J Physiol*, 2005, 55: 181-189.

Yamada D, Yoshida M, Williams YN, Fukami T, Kikuchi S, Masuda M, Maruyama T, Ohta T, Nakae D, Maekawa A, Kitamura T and Murakami Y, Disruption of spermatogenic cell adhesion and male infertility in mice lacking TSLC1/IGSF4, an immunoglobulin superfamily cell adhesion molecule. *Mol Cell Biol*, 2006, 26: 3610-3624.

2. 学会発表

鰐淵英機：天然添加物の発がん性等に関する研究。平成 17 年度厚生労働科学研究（食品の安全性高度化推進研究事業）「天然添加物の発がん性等に関する研究」鰐淵班中間・事後評価委員会におけるヒアリング, 1 月 26 日, 東京, 2005

鰐淵英機：多段階発がんおよび環境化学物質の影響-MeIQx 誘発肝発がんにおける遺伝子発現の

解析-平成17年度厚生労働省がん研究助成金「個体レベルにおける多段階発がんに関する研究」牛島第1回班会議, 10月21日, 東京, 2005

福島昭治、鰐淵英機、魏 民：胎児・幼児期曝露による。平成16年度厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）「中枢神経系に影響を与える内分泌かく乱化学物質の順位付けとヒトでのリスク予測と回避法の研究」船江班第1回班会議, 2月14日, 大阪市大, 2005

鰐淵英機、木下アンナ、魏 民、福島昭治：有機砒素化合物、MMA、DMA、TMAOの発がん機序解析。シンポジウム講演, 第12回ヒ素シンポジウム, 11月5-6日, 岩手, 2005（講演要旨集 シンポジウム 2A-09, p. 90）

木下アンナ、鰐淵英機、魏 民、野田哲生、西村暹、福島昭治：Mmh/OGG1ミュータントマウスにおけるDimethylarsinic acidの発がん性。第21回日本毒性病理学会, 1月20-21日, 東京, 2005（第21回日本毒性病理学会講演要旨集 P-96, p. 99）

魏 民、鰐淵英機、串田昌彦、カンジンソック、プアタナチョックチャイラウィワン、福島昭治：プロボリスのDiethylnitrosamine誘発ラット肝発癌に対する修飾作用。第94回日本病理学会, 4月14-16日, 横浜, 2005（日本病理学会誌第94巻第1号 P3-I-46, p. 346）

山口貴嗣、鰐淵英機、魏 民、宮地夏子、カンジンソック、串田昌彦、福島昭治：臭素酸カリウムの低用量域における腎毒性-Big Blue ratでの検討-。第94回日本病理学会, 4月14-16日, 横浜, 2005（日本病理学会誌第94巻第1号 P2-I-109, p. 305）

鰐淵英機：分子生物学的手法を用いた非遺伝毒性発癌物質の発癌機序解明。シンポジウム講演, 第28回日本学会会議トキシコロジー研究連絡委員会シンポジウム, 9月6日, 東京, 2005

Fukushima, S., Wei, M., Kang, J.S.: The effect of phthalates on male reproductive toxicity associated with thioacetamide-induced liver damage. 平成16年度厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）「フタル酸/アジピン酸エステル類の生殖器官障害に関する調査研究-発達期ないし有病時曝露による影響評価-」渋谷班第1回班会議, 3月2日, 東京, 2005

鰐淵英機、木下アンナ、魏 民、福島昭治：発がん性評価における前がん病変の意義。ワークショップ講演, 第94回日本病理学会, 4月14-16日, 横浜, 2005（日本病理学会誌第94巻第1号 WS-10-3, p. 172）

Wanibuchi, H., Wei, M., Kinoshita, A. and Fukushima, S.: Carcinogenicity of Dimethylarsenic Acid and its Underlying Mechanisms. APOCP General Assembly Satellite Meeting 'Modeling for Detection of Environmental Carcinogens and Modifying Agents in the Asian Pacific', November. 6-7, Chiang Mai Orchid Hotel, Thailand, 2006.

魏 民、鰐淵英機、木下アンナ、土井賢一郎、柚木孝之、大森雅子、福島昭治：ジメチルアルシン酸による誘発ラット膀胱がんの遺伝子発現解析。第22回日本病理学会, 4月30日-5月2日, 東京, 2006（日本病理学会誌第95巻第1号 P1-H-3, p. 247）

土井賢一郎、魏 民、柚木孝之、萩原淳司、鰐淵英機、福島昭治：AOM-PhIP誘発ラット大腸腺癌組織における、3次元マイクロアレイ法を用いた遺伝子発現解析。第95回日本病理学会総会, 4月30日-5月2日, 東京, 2006（日本病理学会誌第95巻第1号 P2-I-135, p. 339）

鰐淵英機：ヒ素による発がん機序。平成17年度お茶の水女子大学「化学・生物総合管理の再教育講座」化学物質総合評価学持論1, 6月21日, 東京, 2006

鰐淵英機：ラット肝発がんにおける誘発したGST-P陽性細胞巢のプロテオーム解析。第33回日本トキシコロジー学会学術年会, 7月3-5日, 名古屋, 2006（第33回日本トキシコロジー学会学術年会プログラムランチョン1, p. 72）

木下アンナ、魏 民、福島昭治、鰐淵英機：ラット肝中期発癌モデル（伊東法）におけるバレリアンによる肝発癌抑制作用の検討。第13回日本がん予防学会, 7月6-7日, 京都, 2006（第13回日本がん予防学会プログラム・抄録集 p-30, p. 37）

柚木孝之、魏 民、木下アンナ、土井賢一郎、大森雅子、福島昭治、鰐淵英機：イソロイシン、ロイシンの膀胱発癌修飾作用の検討。第65回日本癌学会学術総会, 9月28-30日, 横浜, 2006（第

65 回日本癌学会学術総会プログラム P-001, p. 66)

大森雅子、魏 民、木下アンナ、柚木孝之、土井賢一郎、加藤あゆみ、増村健一、能美健彦、福島昭治、鰐淵英機：gpt delta ラット肝における 1, 4-ジオキサンの発がん性および変異原性. 第 65 回日本癌学会学術総会, 9 月 28-30 日, 横浜, 2006 (第 65 回日本癌学会学術総会プログラム P-006, p. 66)

木下アンナ、魏 民、土井賢一郎、柚木孝之、福島昭治、鰐淵英機：ラット肝発がんにおいて誘発した GST-P 陽性細胞巢のプロテオーム解析. 第 65 回日本癌学会学術総会, 9 月 28-30 日, 横浜, 2006 (第 65 回日本癌学会学術総会プログラム P-044, p. 67)

加藤あゆみ、木下アンナ、魏 民、土井賢一郎、柚木孝之、大森雅子、福島昭治、鰐淵英機：マウス肝発がんにおけるバイオマーカーの検索. 第 65 回日本癌学会学術総会, 9 月 28-30 日, 横浜, 2006 (第 65 回日本癌学会学術総会プログラム P-045, p. 68)

土井賢一郎、田中雅彰、魏 民、木下アンナ、柚木孝之、渡辺恭良、福島昭治、鰐淵英機：ラット水浸疲労モデルの病理学的解析：疲労が生体に及ぼす影響、ならびに胃発がんを促進する可能性について. 第 65 回日本癌学会学術総会, 9 月 28-30 日, 横浜, 2006 (第 65 回日本癌学会学術総会プログラム 0-396, p. 105)

魏 民、柚木孝之、木下アンナ、土井賢一郎、福島昭治、鰐淵英機：BBN 誘発ラット膀胱発癌におけるジメチルアルシン酸による発癌促進作用に対するアスコルビン酸の修飾効果. 第 65 回日本癌学会学術総会, 9 月 28-30 日, 横浜, 2006 (第 65 回日本癌学会学術総会プログラム 0-774, p. 176)

竿尾 光祐、松田 陽子、横平 政直、中野 正行、今井田 克己、薬剤起因性の心筋炎による心タンポナーデを来したと考えられた一剖検例, 第 9 4 回日本病理学会総会, 2005. 4. 14 横浜

松田 陽子、竿尾 光祐、横平 政直、阪本 晴彦、上野 正樹、今井田 克己、Listeria monocytogenes 敗血症による化膿性脳脊髄膜炎、心外膜炎の 1 剖検例, 第 9 4 回日本病理学会総会, 2005. 4. 14 横浜

横平政直、竿尾光祐、松田陽子、今井田克己、大野正文、子宮体部腫瘍, 第 87 回スライドカンファレンス、日本病理学会中国四国支部学術集会, 2005. 6. 18 鳥取

T. Shirai, M. Kawabe, T. Ichihara, J. Wang, O. Fujiwara, M. Taki, K. Wake, S. Watanabe, Y. Yamanaka, K. Imaida, S. Tamano, Review of Japanese in vivo studies on brain tumor carcinogenesis of cellular phones, Bioelectromagnetics 2005, A joint meeting of the Bioelectromagnetics Society and the European BioElectromagnetics Association, 2005. 6. 19 Dublin, Ireland

横平政直、竿尾光祐、松田陽子、竹内聖、山川けいこ、曾宇、細川京子、今井田克己、ラット肝中期発癌性試験（伊東法）を用いた各種 COX 阻害剤による肝発癌修飾作用の検討, 第 20 回発癌病理研究会, 2005. 8. 23-8. 25 旭川

細川 京子、横平 政直、曾 宇、竿尾 光祐、松田 陽子、山川 けいこ、今井田 克己、ラット肝中期発癌性試験（伊東法）を用いた紫トウモロコシ色素による肝発癌の修飾作用, 第 6 4 回日本癌学会学術総会, 2005. 9. 14 札幌

谷内田真一、坂元亨宇、小出紀正、臼杵尚志、岡野圭一、横平政直、竿尾光祐、今井田克己、肝多段階発癌過程における p 2 7 とその関連細胞周期シグナルの発現に関する免疫組織化学的検討, 第 6 4 回日本癌学会学術総会, 2005. 9. 15 札幌

松田陽子、横平政直、竿尾光祐、山川けいこ、細川京子、中野正行、今井田克己、bovine lactoferrin (bLF) 経口投与による NNK 誘発 A/J マウス肺腫瘍抑制効果の検討, 第 6 4 回日本癌学会学術総会, 2005. 9. 15 札幌

竿尾 光祐、松田 陽子、山川 けいこ、細川 京子、横平 政直、鎌滝 哲也、今井田 克己、ヒト大腸癌組織における CYP2A6 の発現, 第 6 4 回日本癌学会学術総会, 2005. 9. 15 札幌

山川 けいこ、横平 政直、竹内 聖、細川 京子、松田 陽子、竿尾 光祐、今井田 克己、マウスを用いた肺発癌化学予防の中期検索モデルの開発, 第 6 4 回日本癌学会学術総会, 2005. 9. 15 札幌

横平政直、山川けいこ、細川京子、白石誠、竿尾光祐、松田陽子、今井田克己、ラット肝中期発癌性試験(伊東法)を用いた各種 COX 阻害剤による肝発癌修飾用の検討, 第 64 回日本癌学会学術総会, 2005. 9. 16 札幌

Yoko Matsuda, Masanao Yokohira, Kyoko Hosokawa, Keiko Yamakawa, Kousuke Saoo, Katsumi Imaida, Post-initiation Chemopreventive Effects of Dietary Bovine Lactoferrin on 4-(Methylnitrosamino)-(3-Pyridyl)-1-Butanone-Induced Lung Tumorigenesis in Female A/J Mice, The International Conference on Lactoferrin Structure, Function and Applications, 2005. 10. 17 Waikiki, U. S. A.

松田陽子、竿尾光祐、横平政直、森誠治、今井田克己、胃腫瘍, 日本病理学会中国四国支部学術集会(第 88 回スライドカンファレンス), 2005. 11. 26 岡山

横平政直、山川けいこ、竿尾光祐、松田陽子、曾宇、細川京子、今井田克己、ラット肝中期発癌性試験(伊東法)を用いた D-Allose (希少糖)による肝発癌の修飾作用, 第 22 回日本毒性病理学会, 2006. 1. 25 鹿児島

Nakae D, Uematsu F, Takahashi M, Yoshida M, Igarashi M, Abe M, Maekawa A, Konishi Y, Kotake Y and Floyd RA. A novel synthetic antioxidant 4-hydroxyphenyl *N-tert*-butyl nitron inhibits the development of hepatocellular carcinoma in rats fed a choline-deficient, L-amino acid-defined diet. 96th Annual Meeting of the American Association for Cancer Research (Anaheim, 2005).

Nakae D, Uematsu F, Takahashi M, Yoshida M, Igarashi M, Maekawa A, Konishi Y, Kotake Y and Floyd RA. A novel synthetic antioxidant 4-hydroxyphenyl *N-tert*-butyl nitron inhibits the development of hepatocellular carcinoma in rats fed a choline-deficient, L-amino acid-defined diet. ISCaP Symposium in Kyoto (Kyoto, 2005).

中江 大, 植松史行, 高橋正一, 吉田 緑, 五十嵐麻希, 前川昭彦, 小西陽一, 古武弥成, Floyd RA. ラットにおける新規合成抗酸化物質 4-hydroxyphenyl *N-tert*-butyl nitron の内因性肝細胞がん誘発に対する抑制効果. 第 12 回日本

がん予防研究会(岐阜, 2005).

中江 大, 高橋正一, 吉田 緑, 植松史行, 五十嵐麻希, 前川昭彦. ナガセ無アルブミンラットと Sprague-Dawley 系ラットの肝発がんにおける発がん機構特異的なスプライシング制御異常とタンパク発現変動プロファイル. 第 20 回発癌病理研究会(旭川, 2005).

中江 大, 植松史行, 高橋正一, 吉田 緑, 五十嵐麻希, 前川昭彦, 小西陽一. 新規抗酸化物質 4-hydroxyphenyl *N-tert*-butyl nitron のラットにおける内因性肝細胞がん誘発に対する抑制効果. 第 64 回日本癌学会学術総会(札幌, 2005 年 9 月).

中江 大, 阿部正義, 鈴木紀子, 吉田 緑, 五十嵐麻希, 植松史行, 高橋正一, 前川昭彦. 食品中金属類と食品中化学物質の複合による発がんリスクに関する実験的研究. カテキン及びグルコン酸銅を用いたラット中期多臓器発がん性試験法による検討 1. 第 10 回日本フードファクター学会(岡山, 2005).

阿部正義, 鈴木紀子, 吉田 緑, 五十嵐麻希, 植松史行, 高橋正一, 前川昭彦, 中江 大. 食品中金属類と食品中化学物質の複合による発がんリスクに関する実験的研究. カテキン及びグルコン酸銅を用いたラット中期多臓器発がん性試験法による検討 2. 第 10 回日本フードファクター学会(岡山, 2005).

中江 大. アセトアミノフェン, プロモベンジンによる肝細胞壊死と遺伝子・蛋白発現の変化. 第 22 回日本毒性病理学会学術集会(鹿児島, 2006).

阿部 正義, 鈴木 紀子, 吉田 緑, 五十嵐 麻希, 白田 浩二, 古川 賢, 植松 史行, 高橋 正一, 前川 昭彦, 中江 大. 食品中金属類と食品中化学物質の複合による発がんリスクに関する実験的研究. カテキン及びグルコン酸銅を用いたラット中期多臓器発がん性試験法による検討 1. 第 22 回日本毒性病理学会学術集会(鹿児島, 2006).

H. 知的所有権の取得状況
特許取得
なし
実用新案登録
なし
その他
なし

厚生労働科学研究費補助金(食品の安心・安全確保推進研究事業)
平成 17 年度分担研究報告書

プロポリスの発がん性等に関する研究
分担研究者：鰐淵 英機 大阪市立大学大学院医学研究科 教授

研究要旨

本研究では安全性評価の確立していない天然添加物の長期曝露の安全性を評価するため、変異原性が疑陽性以上であり、平成 14 年度までに 90 日反復投与毒性試験等が施行された品目のうち、プロポリスについて、2 年間発がん性試験をラットに施行し、3 年間かけてその安全性を評価することとした。品質性の保証された標準検体の入手し、BrlHan:WIST@Jc1 (GALAS) ラット (日本クレア株式会社) を使用することとなった。投与用量は、平成 14 年度までに施行された 1 年間慢性毒性試験等の結果を参考に 2.5%、0.5% および対照群とした。プロポリス粉末 (アピ株式会社供与) を入手し、検体の飼料への添加、安定性を検索した結果、固形飼料への成形の過程で、成分のばらつきや減少が見られたため、粉末飼料での投与と決定した。一般状態について、対照群ラットに比べて、0.5% プロポリス投与群の雄と 2.5% プロポリス投与群の雌ラットの生存率が有意に高いことが示されたが、0.5% および 2.5% 群の雄雌に観察された lymphoma/leukemia および下垂体腫瘍の発生率減少によると考えられた。体重の推移に関して、10 週から雌雄ともプロポリスの高用量投与群 (2.5%) で体重増加の抑制が認められたが、これは被験物質の高濃度含有する飼料での長期飼育による栄養学的な不足の結果である可能性が考えられた。また、2.5% 投与群では雌で TG と総コレステロールの低下がみられた。病理組織学的解析から、対照群ラットの腫瘍の発生に比べて、散発的にプロポリス投与のラットにおいて、腫瘍発生の減少が見受けられることはあるものの、少なくともプロポリス投与に関連した非腫瘍性および腫瘍性変化の増加は認められなかった。0.5% プロポリス投与群においてプロポリスによる影響はいずれの項目にも認められなかった。これらの結果から、プロポリスに発がん性はないと判断された。プロポリスの長期投与による NOAEL は雌では 0.5%、雄では 2.5% と結論された。

A. 研究目的

食品添加物の多くはヒトが長期にわたって摂取する可能性が高いことから、基本的な安全性が確立されていない既存添加物について可及的速やかな安全性評価は食品衛生上急務と考えられる。本研究では、天然添加物のなかで変異原性が疑陽性以上であり、1 年間反復投与毒性試験が施行され、肝の前がん病変の指標とされる GST-P 陽性細胞巢の出現がみられ、発がん性が疑われるプロポリス抽出物を選び、2 年間発がん性試験をラットに施行し、3 年間かけてその安全性を評価することとした。近年の健康食品ブームのなか、プロポリスは急速に消費量が増加し、長期曝露の安全性評価が待たれている。

B. 研究方法

<被験物質並びに投与量>

プロポリス抽出物はアピ株式会社 (岐阜市) から供与されたプロポリス粉末を使用した。プロポリス粉末は、ブラジル産を原材料とし、アルコールで溶解し不純物である花粉等の夾雑物を遠心分離により除去後、アルコールを除去し、デキストリン (粉末化剤) を 50% 加え粉末化したもので

ある。

2 年間発がん性試験に用いる投与量は、平成 14 年度までに施行された 1 年間慢性試験の結果等を参考にして、最高用量をプロポリス含量として 2.5% とし、最低用量を 0.5% とした。プロポリスはオリエンタル MF 基礎飼料に規定量混ぜたものを検体として使用した。プロポリス粉末には 50% のデキストリンが粉末化剤として添加されているため、添加飼料は (2.5% プロポリス+2.5% デキストリン) 添加群、(0.5% プロポリス+2.5% デキストリン) 添加群、対照群として 2.5% デキストリン添加とした。被験物質の飼料への添加、固形化はオリエンタル酵母工業株式会社に依頼し、試験に供する (図 1)。

プロポリスの飼料中含量および安定性を検索する指標として、*p*-クマル酸相当量、アルテピリン C、バッカリン、ドウルパニンを測定した。すなわち、日本健康栄養食品協会のプロポリス規格基準として、HPLC の全ピーク面積を *p*-クマル酸として換算し、*p*-クマル酸相当量としている。また、アルテピリン C、バッカリン、ドウルパニンは、ブラジル産プロポリスの主要成分であり、抗癌作用を確認しているプレニル基を持つ桂皮

酸誘導体である。これらを添加飼料作成の過程でサンプリングし、含量、安定性の検索を HPLC 法にて行った。

<動物並びに飼育条件>

5 週齢の Br1Han:WIST@Jc1 (GALAS) ラット雌雄各 150 匹を日本クレア株式会社から入手し、約 1 週間の馴化飼育後、2 年間発がん性試験に用いる。動物の飼育は大阪市立大学大学院医学研究科動物実験施設のバリアーシステムの動物室にて行い、室内の環境条件は温度 $24 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 $60 \pm 10\%$ 、12 時間蛍光灯照明、12 時間消灯の条件下で行う。動物はプラスチックケージに 3 匹づつ飼育し、飲料水として、水道水を自由摂取させる。ケージおよびチップを週 1 回交換する。

<観察並びに検索方法>

食品添加物のがん原性試験法ガイドラインに準じて行う。観察並びに検索項目は以下の通りである。

[一般状態、体重、摂餌量]

全動物は、一般状態を毎日観察し、投与開始の 6 ヶ月後まで週 1 回体重および摂餌量を測定し、その後について 1 ヶ月に 1 回測定する。1 日あたりのプロポリス摂取量 (mg/kg/day) は、その結果より算出する。

[病理組織学的検査]

104 週の投与終了後に、それぞれ全生存例を安楽死させて詳細な剖検を行った。なお解剖時に各群から無作為に抽出した 10 匹はエーテル麻酔した後、腹部大動脈から採血を行った。

剖検においては、以下に示す器官・臓器を採取し、下線を付したものについて重量を測定した後、全てを 10% 中性緩衝ホルマリン液により固定する。ただし、精巣および眼球については、必要に応じて適切な固定液を用いることがある。採取する器官・臓器は、リンパ節(頸部・腸間膜)・胸腔内大動脈・顎下腺・耳下腺・胸骨・大腿骨(骨髄を含む)・胸腺・気管・肺・心・甲状腺および上皮小体(固定後)・舌・食道・前胃・腺胃・十二指腸・小腸(空腸・回腸)・大腸(盲腸・結腸・直腸)・肝・膵・脾・腎・副腎・膀胱・精囊・前立腺・精巣・精巣上部・卵巣および卵管・子宮・膣・脳・下垂体・坐骨神経・大腿筋・脊髄(頸部および腰部)・眼球およびハーダー腺・大腿骨・胸骨・頭蓋骨および鼻腔・その他の肉眼的異常部位である。

死亡例および瀕死による切迫屠殺例については、上記と同様に解剖し死因を究明するが、重量の測定は実施しない。切迫例については、可能な

限り末梢血の塗抹標本を作製した。

病理組織学的検索は、対照群および高用量群の全動物について、以下に示す器官・組織の固定標本から切り出しを行い、通常の方法でパラフィン包埋して薄切し、ヘマトキリシン/エオジン染色を施して鏡検する。該当する器官・臓器は、リンパ節(頸部・腸間膜)・胸腔内大動脈・顎下腺・耳下腺・胸骨・大腿骨(骨髄を含む)・鼻腔・胸腺・気管・肺・心・甲状腺および上皮小体・舌・食道・前胃・腺胃・十二指腸・小腸(空腸・回腸)・大腸(盲腸・結腸・直腸)・肝・膵・脾・腎・副腎・膀胱・精囊・前立腺・精巣・精巣上部・卵巣および卵管・子宮・膣・脳・下垂体・坐骨神経・大腿筋・脊髄(頸部および腰部)・眼球およびハーダー腺・その他の肉眼的異常部位である。その他の用量群の全動物については、胸腺・肺・肝・脾・腎・副腎・精巣・卵巣とその他の肉眼的異常部位および高用量群において投与に関連した異常が観察された器官・組織について、上述と同様の方法で病理組織学的検査を行った。

[血液学的および血清生化学的試験]

慢性毒性試験においては、解剖時に生存する全動物を対象として、血液学的および血清生化学的試験を実施した。動物は、採血前日の 17 時より絶食させ、解剖時に腹部大動脈あるいは腹部大静脈より採血した。血液学的試験は、血液分析に関しては自動分析機 (Sysmex XE-2100, Mitubishi Chemical Visuals、大阪、日本) を用い、赤血球数 (RBC)・白血球数 (WBC)・血色素量 (Hb)・ヘマトクリット (HT)・平均赤血球容積 (MCV)・平均ヘモグロビン量 (MCH)・平均ヘモグロビン濃度 (MCHC)・白血球分画を検索した。血清生化学的試験は、血清を用い、血清総蛋白 (TP)・A/G 比・アルブミン (ALB)・ビリルビン (BIL)・トリグリセライド (TG)・総コレステロール (TCHO)・クレアチニン (CRE)・ナトリウム (Na)・カリウム (K)・カルシウム (Ca)・無機リン (IP)・アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)・アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)・アルカリホスファターゼ (ALP)・ γ -グルタミルトランスフェラーゼ (γ -GTP) を検索した。

[統計学的解析]

体重・摂餌量・臓器重量・血液学的および血清生化学的検査結果については、ANOVA による解析を行い、群間に有意差が観察された場合に、Dunnett の方法で対照群と各被験物質投与群の間で検定を行った。病理組織学的検査結果については、Fischer の直接確率検定法を用いて統計学的解析を実施した。最終生存率や病変の発生率につ

いては Chi-squared test または Exact probability test を用いて解析した。なお、腫瘍および前がん病変については、必要に応じて別途検定方法を選択して行った。

<倫理面への配慮>

本研究においては、実験動物の適切な扱いに関する国内外の法規・規則・ガイドライン等に準拠し、財団法人佐々木研究所動物実験委員会による事前審査とモニタリングを受けることにより、適切な倫理面への配慮を行った。

C. 研究結果

プロポリスの飼料中含量を検索した結果、プロポリスの MF 基礎粉末飼料への添加では、日本健康栄養食品協会のプロポリス規格基準としての *p*-クマル酸相当量、プロポリス中の活性物質であるアルテピリンC、バッカリン、ドウルパニンは、ミキサー中での混合ムラはみとめられなかった。しかしながら、固形成形後の MF+プロポリス添加飼料では、主要成分である *p*-クマル酸とドウルパニンの含有量が減少して測定された。すなわち、成形の際の加水や加熱により、分解または変化した可能性があると考えられた。よって、本実験では、固形化せずに粉末飼料として投与することとした。

一般状態および死亡率

雄と雌ラットの死亡率の経過を図4に記載した。実験開始後 43 週目にコントロール投与群雄ラットの死亡が初めて確認され、61 週目にコントロール投与群の雌ラットの最新の死亡が認められた。コントロールラットに比べて、0.5%と 2.5%プロポリス投与群の雄、雌ラットの生存率が有意に高いことが示された(図5)。すなわち、0.5%雄と 2.5%プロポリスを与えた雌ラットはそれぞれ、実験開始後 54 週目と 60 週目に死亡が初めて確認された。また、0.5%と 2.5%プロポリスを与えた雌ラットは実験開始後 76 週目と 86 週目に始めての死亡が認められた。104 週剖検時点での雄生存率は第 1, 2, 3 群に対しそれぞれ 86, 92, 86%であり、雌のそれは第 4, 5, 6 群に対しそれぞれ 68, 76, 88%であった(図5)。雄の 0.5%プロポリスを与えたラット(第3投与群)および 2.5%プロポリスを与えた雌ラットはそれぞれ、コントロール投与群(第1, 4)に比べて生存率が有意に高いことが示された ($P < 0.05$)。

体重、摂餌および飲水量変化

体重、摂餌量および摂水量の経過は図 1, 2, 3 および図 2, 3, 4 に記載した。体重の推移に関して、10 週から雌雄ともプロポリスの高用量投与群(2.5%)で体重増加の抑制が認められた。全投与群間の摂餌量及び摂水量に関しては有意な差は認められなかった。

最終体重についてはプロポリスの高用量(2.5%)投与群(G6)では有意に減少していた(表 1、図 2)。

摂餌量および飲水量は各群間で有意差は認めなかった(表 2, 3、図 3, 4)。全体プロポリス摂餌量が表 4 に示した。

臓器重量

104 週剖検時点でのラットの最終体重、臓器重量および相対臓器重量の結果が表 5 に記載した。

最終体重および相対重量地において雌雄の各投与群とも対照群との間で有意な差は認められなかった(表 5)。各群間で被検物質によると思われる特徴的な臨床症状は見いださなかった。

血液分析

血液、生化学的解析の結果は表 6、7 に記載した。血算分析は各群間で有意差は認めなかった。血清化学分析は雌 2.5%プロポリス投与群でのトリグリセライド(TG)および総コレステロール(TCHO)量が有意に低下していた。

剖検および病理学組織的検索

病理肉眼的検査において、途中死亡・切迫殺動物を含む全例において、投与に関連した肉眼所見は認められなかった。

病理組織学的検査については非腫瘍性病変は表 9 に、腫瘍性病変は表 10 に記載した。プロポリス投与に関連した腫瘍性病変の発生率に関して、すべての臓器・器官において高用量群と対照群との間で有意な増加が認めなかった(表 9)。非腫瘍性病変では雌雄とも投与に関連した非腫瘍性病変の増加は認められなかった(表 10)。

全動物の剖検および病理学組織病理学解析の結果を表 8、9、10 に記載した。病理組織学的解析から、コントロール雄ラットの腫瘍の発生に比べて、lymphoma/leukemia の発生率の有意な減少が認められた(表 10)。0.5%プロポリス投与群雄ラットの下垂体腫瘍(腺腫, $P < 0.05$)、または 2.5%プロポリス投与雌ラットの下垂体腫瘍(癌腫, $P < 0.01$) の発生率の有意な減少が認められた(表 10)。

D. 考察

天然添加物のプロポリス抽出物 2 年間発がん性

試験を終了した。

本報告書は、プロポリスの安全性評価の一環として、ラットにほぼ一生に亘り被験物質を摂取させ、発現するがん原性の有無の検索することを目的としたラットを用いた混餌投与による発がん性試験の結果をまとめたものである。

プロポリス投与による影響は一般状態には認められなかったが、2.5%群の雌雄では体重増加抑制が散見された。高用量群では、被験物質を2.5%という高濃度含有する飼料で飼育されており、この用量の長期飼育により栄養学的な不足を招く可能性も否定できない。加えて後述するように、投与による明らかな毒性は高用量群で観察されなかったことから、この体重増加抑制は投与による影響ではあるが毒性影響ではないと考えられた。

高用量群の飼料摂取量増加は、餌の硬度低下による餌こぼしの増加による見かけ上の変化であると考えられた。

病理検査において0.5%および2.5%群の雌雄に観察されたlymphoma/leukemiaの発生率減少は、投与に変化であると考えられた。

2.5%プロポリス投与群において発生頻度および程度の増加だけでなく発生時期が早期化するような腫瘍性変化は認められなかったことから、プロポリスの長期投与による発がん性は観察されないと考えられた。

したがって、本試験の結果、長期投与によるNOAELは雌雄とも0.5%、LOELは雌雄とも2.5%と結論された。プロポリスに発がん性は認められなかった。

E. 結論

プロポリスをラットにほぼ一生に亘り被験物質を摂取させ、発現するがん原性の有無の検索することを目的として、1群雌雄各50匹のBrlHan:WIST@Jcl(GALAS)ラット(日本クレア株式会社、東京)にプロポリスを0、0.5、および2.5%の濃度で2年間混餌投与し、発がん性試験を行った。投与用量は1年間慢性毒性試験の結果を参考にし、2.5%、0.5%に設定した。プロポリス含有飼料の固形成形化の過程で、プロポリス主要成分であるp-クマル酸とドウルパニンの含有量が減少して測定されたため、粉末飼料で投与することとした。

プロポリス投与により2.5%群の雌雄では体重増加抑制が散見されたが、被験物質の高濃度含有する飼料での長期飼育による栄養学的な不足の結果である可能性が考えられた。

対照群ラットに比べて、0.5%投与群の雄と2.5%プロポリス投与群の雌ラットの生存率が有意に

高いことが認められた。その結果は0.5%および2.5%群の雌雄に観察されたlymphoma/leukemiaおよび下垂体腫瘍の発生率減少によると考えられた。一方、2.5%投与群では雌でTGと総コレステロールの低下が認められた。

病理組織検査においてプロポリス投与に関連した非腫瘍性および腫瘍性変化の増加は認められなかった。0.5%プロポリス投与群においてプロポリスによる影響はいずれの項目にも認められなかった。

これらの結果から、プロポリスに発がん性はないと判断された。プロポリスの長期投与によるNOAELは雌では0.5%、雄では2.5%と結論された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Nishikawa, M., Wanibuchi, H., Morimura, K., Kinoshita, A., Nishikawa, T., Hayashi, S., Yano, Y. and Fukushima, S.: N-acetylcysteine and S-methylcysteine inhibit MeIQx rat hepatocarcinogenesis in the post-initiation stage. *Carcinogenesis*, 27, 982-988, 2005.

Wei, M., Morimura, K., Wanibuchi, H., Shen, J., Salim, E. I., Moku, M., Hakoi, K. and Fukushima, S.: JTE-522, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, inhibits induction but not growth and invasion of 1,2-dimethylhydrazine-induced tubular adenocarcinomas of colon in rats. *Int. J. Cancer*, 113, 354-358, 2005.

Kuroda, K., Yoshida, K., Yoshimura, M., Endo, Y., Wanibuchi, H., Fukushima, S. and Endo, G.: Genotoxicity of dimethylarsinous acid: high induction of tetraploids. *Appl. Organometal. Chem.*, 19, 221-225, 2005.

Kang, J.S., Morimura, K., Salim, E.I., Wanibuchi, H., Yamaguchi, S. and Fukushima, S.: Persistence of liver cirrhosis in association with proliferation of nonparenchymal cells and altered location of α -smooth muscle actin-positive cells. *Toxicol. Pathol.*, 33, 329-335, 2005.

Kang, J.S., Wanibuchi, H., Morimura, K.,

- Puatanachokchai, R., Salim, E. I., Hagihara, A., Seki, S. and Fukushima, S.: Enhancement by estradiol 3-benzoate in thioacetamide-induced liver cirrhosis of rats. *Toxicol. Sci.*, 85, 720-726, 2005.
- Fukushima, S., Wanibuchi, H., Morimura, K., Nakae, D., Tsuda, H., Imaida, K., Shirai, T., Tatematsu, M., Tsukamoto, T., Hirose, M., Furukawa, F.: Lack of potential of low dose *N*-nitrosodimethylamine to induce preneoplastic lesions, glutathione *S*-transferase placental form-positive foci, in rat liver. *Cancer Lett.*, 222, 11-15, 2005.
- Doi, K., Wanibuchi, H., Salim, E. I., Morimura, K., Kinoshita, A., Kudoh, S., Hirata, K., Yoshikawa, J. and Fukushima, S.: Lack of large intestinal carcinogenicity of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine at low doses in rats initiated with azoxymethane. *Int. J. Cancer*, 115, 870-878, 2005.
- Fukushima, S., Morimura, K., Wanibuchi, H., Kinoshita, A. and Salim, E. I.: Current and emerging challenges in toxicopathology: carcinogenic threshold of phenobarbital and proof of arsenic carcinogenicity using rat medium-term bioassays for carcinogens. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 207, S225-S229, 2005.
- Fukushima, S., Kinoshita, A., Puatanachokchai, R., Kushida, M., Wanibuchi, H. and Morimura, K.: Hormesis and dose-response-mediated mechanisms in carcinogenesis: evidence for a threshold in carcinogenicity of non-genotoxic carcinogens. *Carcinogenesis*, 26, 1835-1845, 2005.
- Murai, T., Mori, Y., Tatematsu, K., Koide, A., Hagiwara, A., Makino, S., Mori, S., Wanibuchi, H. and Fukushima, S.: Differences in susceptibility to *N*-butyl-*N*-(4-hydroxybutyl)nitrosamine-induced urinary bladder carcinogenesis between SD/gShi rats with spontaneous hypospermatogenesis and SD/cShi rats with spontaneous hydronephrosis. *Cancer Sci.*, 96, 637-644, 2005.
- Kushida, M., Sukata, T., Uwagawa, S., Ozaki, K., Kinoshita, A., Wanibuchi, H., Morimura, K., Okuno, Y. and Fukushima, S.: Low dose DDT inhibition of hepatocarcinogenesis initiated by diethylnitrosamine in male rats: Possible mechanisms. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 208, 285-294, 2005.
- Kushida, M., Wanibuchi, H., Morimura, K., Kinoshita, A., Kang, J. S., Puatanachokchai, R., Wei, M., Funae, Y. and Fukushima, S.: Dose-dependence of Promotion of 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-*f*]quinoxaline-induced rat hepatocarcinogenesis by ethanol: Evidence for a threshold. *Cancer Sci.*, 96, 747-757, 2005.
- Morimura, K., Kang, J. S., Wei, M., Wanibuchi, H., Tsuda, H. and Fukushima, S.: Lack of urinary bladder carcinogenicity of sodium L-ascorbate in human *c-Ha-ras* proto-oncogene transgenic rats. *Toxicol. Pathol.*, 33, 764-767, 2005.
- Nishikawa, M., Wanibuchi, H., Morimura, K., Kinoshita, A., Nishikawa, T., Hayashi, S., Yano, Y. and Fukushima, S.: *N*-acetylcysteine and *S*-methylcysteine inhibit MeIQx rat hepatocarcinogenesis in the post-initiation stage. *Carcinogenesis*, 27, 982-988, 2005.
- Hagiwara, A., Murai, T., Miyata E., Nabae, K., Doi, Y., Yoshino, H., Ichihara, T., Mori, S. and Fukushima, S.: Influence of strain and diet on hepatocarcinogenicity of *N*-butyl-*N*-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN) in rats: slight inhibition of preneoplastic liver lesion development by uracil. *J. Toxicol. Pathol.*, 18, 105-110, 2005.
- Wei, M., Hori, T., Wanibuchi, H., Morimura, K., Kang, J. S., Puatanachokchai, R. and Fukushima, S.: Existence of no-observed effect levels for 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-*f*]quinoxaline on hepatic preneoplastic lesion development in BN rats. *Cancer Letters*, 231, 304-308, 2006.
- Romanenko, A., Morimura, K., Kinoshita, A., Wanibuchi, H., Vozianov, A. and Fukushima, S.: Aberrant expression of E-cadherin and β -catenin in association with transforming growth factor- β 1 in urinary bladder lesions in

- humans after the Chernobyl accident. *Cancer Sci.*, 97, 45-50, 2006.
- Shen, J., Wanibuchi, H., Waalkes, M. P., Salim, E. I. Kinoshita, A., Yoshida, K., Endo, G. and Fukushima, S.: A comparative study of the sub-chronic toxic effects of three organic arsenical compounds on the urothelium in F344 rats; gender-based differences in response. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 210, 171-180, 2006.
- Kang, J. S., Morimura, K., Toda, C., Wanibuchi, H., Wei, M., Kojima, N. and Fukushima, S.: Testicular toxicity of DEHP, but not DEHA, is elevated under conditions of thioacetamide-induced liver damage. *Reproductive Toxicology*, 21, 253-259, 2006.
- Romanenko, A. M., Kinoshita, A., Wanibuchi, H., Wei, M., Zaparin, W. K., Vinnichenko, W. I., Vozianov, A. F. and Fukushima, S.: Involvement of ubiquitination and sumoylation in bladder lesions induced by persistent long-term low dose ionizing radiation in humans. *The Journal of Urology*, 175, 739-743, 2006.
- Hagihara, A., Wanibuchi, H., Puatanachokchai, R., Kang, J. S., Miyazi, N., Seki, S. and Fukushima, S.: Difference in sensitivity of F344 rats from different breeders to phenobarbital hepatocarcinogenicity. *J Toxicol Pathol*, 19, 29-36, 2006.
- Kang, J. S., Waniuchi, H., Morimura, K., Totsuka, Y., Yoshimura, I. and Fukushima, S.: Existence of a no effect level for MelQx hepatocarcinogenicity on background of thioacetamide-induced liver damage in rats. *Cancer Sci*, 97, 453-458, 2006.
- Kushida, M., Aiso, S., Morimura, K., Wei, M., Wanibuchi, H., Nagano, K. and Fukushima, S.: Absence of β -Catenin Alteration in Hepatic Tumors Induced by p-Nitroanisole in Crj:BDF1 Mice. *Toxicologic Pathology*, 34, 237-242, 2006.
- Wanibuchi, H., Wei, M., Karim, M. R., Morimura, K., Doi, K., Kinoshita, A. and Fukushima, S.: Existence of no hepatocarcinogenic effect levels of 2-amino-3, 8-dimethylimidazo [4, 5-f] quinoxaline with or without coadministration with ethanol. *Toxicologic Pathology*, 34, 232-236, 2006.
- Waddell, W. J., Fukushima, S. and Williams, G. M.: Concordance of thresholds for carcinogenicity of N-nitrosodierhylamine. *Arch Toxicol*, 80, 305-309, 2006.
- Uda, N., Kashimoto, N., Sumioka, I., Kyo, E., Sumi, S. and Fukushima, S.: Aged garlic extract inhibits development of putative preneoplastic lesions in rat hepatocarcinogenesis. *American Society for Nutrition*, 855S-860S, 2006.
- Kitano, M., Chen, Tian-Xin., Morimura, K., Wei, M., Hidaka, T., Hosoe, K. and Fukushima, S.: Biphasic increase of epithelial DNA synthesis in the urinary bladder of rats treated with a tumor promoter, sodium L-ascorbate. *J. Toxicol. Pathol*, 19, 53-56, 2006.
- Kitano, M., Wada, J., Ariki, Y., Kato, M., Wanibuchi, H., Morimura, K., Hidaka, T., Hosoe, T. and Fukushima, S.: Possible tumor development from double positive foci for TGF- α and GST-P observed in early stages on rat hepatocarcinogenesis. *Cancer Sci*, 97, 478-483, 2006.
- Mori, S., Murai, T., Wanibuchi, H., Hagihara, A., Puatanachokchai, P. and Fukushima, S.: Susceptibility of four F₁ hybrids of male rats to the promoting effects of sodium L-ascorbate in two-stage urinary bladder carcinogenesis. *J Toxicol Pathol*. 19, 87-91, 2006.
- Puatanachokchai, R., Morimura, K., Wanibuchi, H., Oka, M., Kinoshita, A., Fukui, M., Yamaguchi, S., Funae, Y. and Fukushima, S.: Alpha-benzene hexachloride exerts hormesis in preneoplastic lesion formation of rat hepatocarcinogenesis with the possible role for hepatic detoxifying enzymes. *Cancer Lett.*, 240, 102-113, 2006.
- Nakajima, Y., Endo, Y., Inoue, Y., Yamanaka, K., Kato, K., Wanibuchi, H. and Endo, G.: Ingestion of Hijiki seaweed and risk of arsenic poisoning[†]. *Appl Organometal Chem.*, 20, 557-564,