

平成18年度

政策創薬総合研究  
重点研究報告書（I）

# 目 次

課題番号		
KH11001	バイオフィotonicsを利用した細胞組織障害を視る、測る、解析する技術の開発	川西 徹 …… 1
KH11002	成長制御機構の解明と成長障害治療法の開発	緒方 勤 …… 16
KH12072	変異を克服した画期的抗ウイルス薬の開発	野口博司 …… 21
KH21004	動脈硬化症と血栓症にかかわるスフィンゴシン1-リン酸 (S1P) 受容体 (S1P3) の拮抗薬の開発	望月直樹 …… 30
KH21005	遺伝子改変動物を用いた病態関連因子の解明と創薬への応用に関する研究	田上昭人 …… 40
KH21006	病態時の侵害情報伝達に関与するプリン受容体の機能解明	井上和秀 …… 100
KH21007	蛋白立体構造異常を原因とするコンフォメーション病に対する病態解明と創薬探索システムの確立	桃井 隆 …… 126
KH21008	高密度CGHアレイを用いた新規白血病・リンパ腫治療薬の標的分子の探索	小川誠司 …… 144
KH21009	脂質代謝・機能の解明とその抗微生物薬開発への応用	花田賢太郎 …… 154
KH21010	繊維芽細胞の放出するmacrophage活性化因子とJAG1蛋白の関連と臓器繊維化の機序解明	香坂隆夫 …… 168
KH21011	血管におけるレクチンを介する生体防御システムの解明と創薬への応用	若宮伸隆 …… 181
KH21012	コネキシン遺伝子の癌抑制機能の網羅的解析；癌予防および治療への応用	矢野友啓 …… 196
KH21013	免疫グロブリン大量静注療法的作用機序解明と新しい治療標的分子の探索	阿部 淳 …… 208
KH21014	受精および初期胚発生における糖鎖の役割解析とその応用に関する研究	藤本純一郎 …… 221
KH21015	細胞内エネルギー代謝制御分子の機能発現機構の解明と新規治療薬への応用	江崎 治 …… 235
KH21018	アルツハイマー病における新規創薬ターゲット検索のための、APP細胞内ドメインの機能解析	中山耕造 …… 247
KH21019	創薬への応用を目標としたB細胞の分化・増殖・細胞死の制御機構解明に関する研究	上出利光 …… 262
KH21021	エンドトキシン認識・刺激伝達機構の解明と医療への応用に関する研究	西島正弘 …… 286
KH21022	ウイルスRNA結合ペプチドを用いたC型肝炎治療薬の開発	鈴木哲朗 …… 300
KH21023	末梢血幹細胞の分化増殖機構の解明と創薬への応用に関する研究	葛西正孝 …… 310
KH21101	DNAマイクロアレイによる多発性硬化症の迅速診断法の樹立に関する研究	佐藤準一 …… 318

KH22073	機能性精神疾患のハイスループットSNPs解析と機能解析による創薬標的分子の解明	功 刀 浩 …… 344
KH31024	超難溶性薬物の効率的製剤化に非晶質の特異性を活用する技術とその評価法の確立	吉 岡 澄 江 …… 358
KH31025	生薬及び漢方処方of科学的品質保証に関する研究	合 田 幸 広 …… 373
KH31026	食中毒細菌の新規迅速検査法の開発とその評価法に関する研究	工 藤 由 起 子 …… 390
KH31027	ハイスループット・ヒト型遺伝毒性試験系の構築	能 美 健 彦 …… 402
KH31028	ヒト肝細胞で置換された肝臓を持つマウスの医薬品開発への利用ー非拘束マウスの胆汁採取分析技術の確立ー	吉 里 勝 利 …… 417
KH31029	高度分析評価技術を応用した医薬品製剤開発および製造工程管理手法の研究	檜 山 行 雄 …… 435
KH31030	患者個別化薬物治療のための遺伝子タイピング法及びメタボロミクス的手法の開発に関する研究	斎 藤 嘉 朗 …… 449
KH31031	細胞医療に用いられる細胞組織利用医薬品の品質・安全性評価技術の開発	山 口 照 英 …… 466
KH31032	医薬品等の有効性・安全性を保証するための分析・解析技術の評価と標準化に関する研究	林 謙 …… 481
KH31034	プロテオミクス及び構造生物学的アプローチ等を用いたバイオ医薬品の特性解析・品質評価技術の開発	川 崎 ナ ナ …… 494
KH31035	生物由来製品のウイルス安全性に関する基盤研究	内 田 恵 理 子 …… 509
KH31036	臨床薬理学的視点による薬効ゲノム情報活用のための基盤研究	東 純 一 …… 525
KH32074	IT技術を用いた低コストかつ高品質な大規模臨床試験実施基盤の構築	永 井 洋 士 …… 537
KH41037	抗フリーラジカル療法を目指した基盤研究と創薬への応用	綱 脇 祥 子 …… 551
KH41038	ボツリヌス神経毒素有効成分を利用したジストニア・痙縮等の治療法の確立と筋萎縮性側索硬化症に対するdrug delivery systemの開発	梶 龍 兒 …… 566
KH42075	熱帯病・寄生虫症に対する稀少疾病治療薬の輸入・保管・治療体制の開発研究	名 和 行 文 …… 576

## ハイスループット・ヒト型遺伝毒性試験系の構築

所属 国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部  
研究者 能美 健彦  
研究期間 平成16年4月～平成19年3月

研究要旨 ヒト遺伝子を用いたハイ・スループット微生物遺伝毒性試験法を確立した。個体レベルで遺伝毒性、催奇形性を評価するトランスジェニックラット、トランスジェニックマウス試験系を樹立した。

### 分担研究者

- (1) 高崎健康福祉大学 鎌滝哲也
- (2) 明治製菓株式会社 林 宏行
- (3) 中外製菓株式会社 渡部一人
- (4) 食品薬品安全センター秦野研究所 須井 哉
- (5) 株式会社 JIMRO 金谷一司
- (6) 大阪府公衆衛生研究所 小田美光

### A. 研究目的

医薬品開発のパラダイムシフトにともない、創薬の初期に多数の化合物の薬効・毒性を少量の試料を用いて評価する手法の開発が求められている。遺伝毒性試験は、医薬品等のヒトゲノムに対する毒性（突然変異や染色体異常の誘発）を評価する試験であり、その結果は発がん性と高い相関を示す。また、遺伝毒性を示す発がん物質の作用には閾値がないとされており、遺伝毒性が認められた候補化合物は、一般に医薬品としての開発は断念される。

本研究班では、創薬の初期段階で遺伝毒性を迅速に検出するハイ・スループット試験法を確立し、医薬品開発の初期に発がんリスクの低い化合物を選択する手法を確立することを研究の目的としている。特に(1)ヒト遺伝子を活用した微生物ハイ・スループット遺伝毒性試験系の開発と(2)トランスジェニックラット、トランスジェニックマウス細胞を用いた遺伝毒性試験、催奇形性試験の確立と評価を目指している。

(1)に関連し、我々はヒト薬物代謝酵素(CYP1A2等)遺伝子を発現する微生物株を用いたumu試験を確立し、同試験法のキット化を進めた(小田、金谷)。また突然変異の誘発に関連するDNAポリメラーゼの研究を基礎に、フラクチュエーションAmes試験(FAT)の改良を行った(能美、須井)。(2)に関連しレポーター遺伝子を導入したトラン

スジェニックラットおよびトランスジェニックマウス培養細胞試験法の評価を進め(林、渡部)、ヒト遺伝子(CYP3A7)を発現するトランスジェニックマウスを用いる催奇形性試験法を開発した(鎌滝)。

### B. 研究方法

#### B-1 ヒト型 umu 試験法

*Salmonella typhimurium* (以下サルモネラと略) TA1535 株にヒト CYP1A2 ならびに NADPH-CYP還元酵素及びサルモネラのアセチル転移酵素(NAT)遺伝子を導入発現させ OY1002/1A2 株を樹立した(小田)。

#### B-2 umu 試験のキット化

サルモネラ NM2009(サルモネラ NAT 高生産株)を凍結乾燥させ、試験当日に1mLのTGA培養液を加えて37℃で培養した。96ウェルプレートに溶媒のみあるいは被験物質を含む液、試験菌液を加え、β-D-galactosidase活性を測定した(金谷)。

#### B-3 改良法フラクチュエーションAmes試験(FAT)

一夜培養液(TA98、TA100、YG5161)を被験物質溶液および代謝活性化を行う場合にはS9 mixとともに24ウェルプレートに接種した。プレートを37℃で90分間培養後、各ウェルに指示培地(pH指示薬のbromocresol purple以外にhistidine、biotin、glucoseを含有)を添加、次いで各ウェルの処理菌液を384ウェルプレートの48ウェルにトランスファーした。384ウェルプレートを37℃で3日間培養後、紫色から黄色に変化したウェル、を計測した(須井)。

#### B-4 ヒト DNA polymerase $\kappa$ (hDNA pol $\kappa$ )の損傷

乗り越え DNA 合成とサルモネラ株における発現

hDNA pol  $\kappa$  の DNA 損傷乗り越え活性は、5' 端から 19 個目の塩基に損傷を持った 36mer の合成オリゴヌクレオチドに、5' 端を蛍光色素 (Cy3) でラベルした 14mer のプライマーをアニールさせ、精製した hDNA pol  $\kappa$  (50nM)、dNTP (250  $\mu$ M) と共に 37°C で 30 分間インキュベーションして測定した。hDNA pol  $\kappa$  をサルモネラで発現させるプラスミド pYG8573 (*lac* プロモーターから HisTag-hDNA pol  $\kappa$  を発現) を作製した。作製したプラスミドをサルモネラ TA1538 株に導入し、HisTag に対する抗体を用いて発現を確認し、benzo[a]pyrene (BP)、10-azabenzopyrene (10-azaBP)、3-methylcholanthrene (3-MC) を用いて S9mix の存在下で Ames 試験を行った (能美)。

B-5 GDL1 マウス細胞のバリデーションと DNA pol  $\kappa$  ノックイン ES マウス細胞の樹立

Cisplatin は 0.25, 0.5, 1  $\mu$ g/mL の用量で、transplatin は 12.5, 25, 50  $\mu$ g/mL の用量で GDL1 細胞に 24 時間暴露させ、*gpt* 変異体頻度 (*gpt* MF) と Spi<sup>-</sup>変異体頻度 (Spi<sup>-</sup> MF) を測定し、さらに塩基配列変化を解析した。国立衛研よりヒト及びマウスの DNA pol  $\kappa$  遺伝子を含むプラスミドを入手し、これを GDL1 細胞へ導入した。得られた細胞株について mRNA の発現を RT-PCR により確認した。不活性型 pol  $\kappa$  ノックインマウスの作製においては国立衛研よりターゲティングベクターを入手し、これを ES 細胞へ導入し、胚盤胞中にインジェクションしてキメラマウスを作製した (渡部)。

B-6 Phenacetin の長期間混餌投与における遺伝子突然変異誘発性検討

*gpt* delta ラット (Sprague Dawley (SD) 系、13-14 週齢、雄雌計 46 匹) に 0.5% phenacetin を 26 および 52 週間混餌投与した。投与群および非投与群のラット肝臓と腎臓からゲノム DNA を抽出し、*in vitro* packaging 法にて  $\lambda$ EG10 フェージを回収後、*gpt* MF を測定した (林)。

B-7 トランスジェニックマウスを用いる催奇形性試験

野生型マウスおよびヒト胎児 P450 分子種 (CYP1A1, CYP1B1 および CYP3A7) を発現するトランスジェニックマウスの胎生 11.5 日の胎子を摘出し、thalidomide (500  $\mu$ g/mL) 存在下、非存在下で 24 時間胎仔全培養を行った。胎仔を培養した後、胎仔の形態を観察し、奇形の有無を評価した。ヒト CYP3A7 を発現するマウス胚由来 F9 細胞に

retinoic acid receptor  $\beta$ 2 由来の RAR 応答配列 (RARE) 2 コピーを含むレポータープラスミドを導入し、その細胞を用いて all-*trans* retinoic acid (ATRA) が誘導するルシフェラーゼ活性に thalidomide が及ぼす影響を検討した (鎌滝)。

(倫理面への配慮) 全ての動物実験は、各施設における「動物実験管理に関する指針」従い、動物実験管理委員会の承認を受けて実施された。マウス培養細胞ならびに微生物を用いる実験は、倫理面の問題はないものと判断した。

C. 研究結果

C-1 ヒト CYP1A2 を発現する *umu* 試験株の感受性  
サルモネラ OY1002/1A2 株を用いて発がん性芳香族アミン IQ, MeIQ, MeIQx, 2-AA, Glu-P-1, Trp-P-2 による *umu* 遺伝子誘導能 (DNA 損傷性) を調べた。*umu* 遺伝子誘導の強さの順序は IQ > MeIQ = MeIQx > 2-AA = Glu-P-1 = Trp-P-2 であり、いずれの化合物も S9 mix による代謝活性化なしに *umu* 試験に陽性結果を示した (小田)。

C-2 キット化 *umu* テストと Ames 試験の相関

米国国家毒性計画 (NTP) で試験された 20 種類の化合物について、本キットを用いて *umu* 試験を行い Ames 試験の結果と比較した。Ames 試験で陰性を示す 8 化合物は、本キットを用いた試験においても全て陰性を示した。Ames 試験で陽性を示した 12 化合物のうち 9 化合物が本キットにおいて陽性を示した (75%)。水、dimethyl sulfoxide 以外に、glycerolformal, N,N-dimethylformamide, acetonitrile, ethanol, methanol, ethylene glycol dimethyl ether, 1,4-dioxine, tetrahydrofuran の 8 種類が溶媒として本キットに適合することを明らかにした (金谷)。

C-3 改良法 FAT

指示培地に histidine 等の栄養素を添加すると陽性反応が顕著となることを見出し、この改良法 FAT の評価を行った。NTP で試験された 40 種類の化合物について改良法 FAT 試験を行い、Ames 試験で陰性の 11 化合物はすべて本法で陰性となり、Ames 試験で陽性の 29 化合物のうち 24 化合物 (73%) は改良法 FAT で陽性となることを明らかにした。大腸菌 DNA ポリメラーゼ IV (DNA pol IV) を発現する YG5161 と TA98 を用いて、13 種類の多環芳香族炭化水素について改良法 FAT を実施し、BP, 3-MC, 1-aminoanthracene, 2-aminoanthracene,

benzo[k]fluoranthane について YG5161 株が TA98 株 よりも 高い 感受性 を 示し、benzo[b]fluoranthane、fluoranthane、benzo[e]pyrene、indeno[1,2,3-cd]pyrene については YG5161 株 でのみ陽性結果を得た(須井)。

#### C-4 hDNA pol $\kappa$ の損傷乗り越え DNA 合成とサルモネラ株における発現

大腸菌 DNA pol IV のヒトホモログである hDNA pol  $\kappa$  を精製し、その DNA 損傷乗り越え活性を調べた。その結果、hDNA pol  $\kappa$  は BP diolepoxide (BPDE)、酸化損傷である 8oxoguanine、thymine glycol、アルキル化損傷である *O*-methylguanine、*O*-methylthymine を乗り越えて DNA 合成を行うことを明らかにした。Ames 試験のテスターであるサルモネラ TA1538 株に hDNA pol  $\kappa$  を発現させ、多環芳香族炭化水素に高感受性を示すテスター株の構築を試みた。pYG8573 プラスミドからは、フルサイズおよび C 末側が欠損した hDNA pol  $\kappa$  が発現した。だが BP を用いて Ames test を行っても BP に対する変異感受性の増大は観察されなかった。また hDNA pol  $\kappa$  の C 末端部分を大腸菌 DNA ポリメラーゼ IV の C 末端部分で置き換えたキメラ蛋白を発現するプラスミドを 3 種作製して TA1538 株に導入した。また導入する親株も TA1538 以外に、サルモネラの *dinB* を欠損させた株や他の損傷乗り越え型 DNA ポリメラーゼ(DNA pol II, V)を欠損させた株を用い、変異原も BP、10-azaBP、3-MC を用いた。だが、いずれの場合も、変異感受性の変化は観察されなかった(能美)。

#### C-5 GDL1 マウス細胞のバリデーションと DNA pol $\kappa$ ノックインマウスの樹立

Cisplatin 及び transplatin 共に GDL1 細胞において *gpt* 塩基置換、Spi 欠失変異を誘発した。変異した DNA 配列は、これまでに報告されている両化合物の DNA 付加体形成位置と一致した。hDNA pol  $\kappa$  遺伝子を導入した GDL1 細胞においては、遺伝子の導入及び、mRNA の発現が確認された。しかし一方で、トランスフェクトしていない GDL1 細胞においても既に内因性 DNA pol  $\kappa$  の mRNA が発現していることが明らかとなった。不活性型 pol  $\kappa$  ノックインマウスの作製においては、ターゲットイングベクターの導入が確認された ES 細胞 7 クローンを胚盤胞中にインジェクションし、このうち 5 クローンにおいてキメラマウスを得た(渡部)。

#### C-6 *gpt delta* トランスジェニックラットを用いた変異検出

Phenacetin 52 週間投与のトランスジェニックラットの非標的臓器(肝臓)における MF は  $32.26 \pm 19.98$  (mean  $\pm$  SD) であり非投与群  $3.96 \pm 2.23$  よりも約 8 倍高い値を示した。一方、標的臓器(腎臓)における MF は  $3.82 \pm 1.0$  であり、非投与群  $1.48 \pm 0.65$  の約 2 倍であった。Phenacetin 投与群では、肝臓、腎臓ともに *gpt* 遺伝子の 26 番目および 27 番目の G  $\rightarrow$  A 変異が増加していた。SD 系の *gpt delta* ラットを F344 ラットと 10 世代にわたってバッククロスし、SD 系 *gpt delta* ラットとほぼ同等のトランスジーン回収率および MF を示す F344 系 *gpt delta* ラットを樹立した(林)。

#### C-7 トランスジェニックマウスを用いる催奇形性試験

胎仔全培養の結果、ヒト CYP3A7 を発現するマウスにおいてのみ thalidomide によって四肢に奇形が誘発された。F9 細胞において、ATRA で処理した際の RAR に依存した転写量は thalidomide の用量に依存して低下した。以上のことから thalidomide は RAR の転写活性を抑制する可能性が示唆された(鎌滝)。

#### D. 考察

ゲノム創薬の進展により、これまでにない多数の候補化合物の中から、迅速かつ正確に高い薬理効果と安全性を有する化合物を選択する方法の確立が重要になりつつある。薬効の選択はレセプター・アッセイなどの手法の導入によりハイ・スループット化が進められているが、安全性の検索は旧来からの手法が踏襲されている場合が多く、安全性検索の段階がボトルネックとなって創薬全体の速度が制約される恐れがある。本研究班ではハイ・スループットな遺伝毒性試験を樹立するため、ヒト薬物代謝酵素遺伝子を発現する umu 試験、改良法 FAT の条件検討を進め、標準的な試験手法を確立した。また umu 試験についてはキット化を行い、より簡便に試験を実施できる体制を整えた。umu 試験や改良法 FAT に必要な化合物量は、Ames 試験の 1/20~1/100、1 化合物当たりの試験コストは 1/3~1/8 となる。されに自動分注装置などを導入することにより、スループット性の向上が期待される。umu 試験と改良法 FAT は、微生物を用いるハイ・スループット遺伝毒性試験の基盤として重要と考える。

遺伝毒性の誘発は、主に(1)CYP などの代謝酵素により化学物質が活性化されて DNA 付加体を作る段階と(2)付加体を持った DNA が突然変異に固定される段階に分けて考えられる。ヒト CYP につい

ては、遺伝毒性試験に用いられるサルモネラ株で発現させ、バクテリアにヒトの性質を付与することに成功しているが、(2)の段階に関わる損傷乗り越え型 DNA ポリメラーゼについては、未だサルモネラ株において活性を保持したまま発現させることに成功していない。今回の研究で、hDNA pol  $\kappa$  は鋳型鎖上の BPDE、アルキル化損傷、酸化損傷を乗り越えて DNA 合成を続けることが示された。hDNA pol  $\kappa$  をはじめとしたヒト損傷乗り越え型 DNA ポリメラーゼの構造と機能を明らかにする研究を通じて、ヒト損傷乗り越え型 DNA ポリメラーゼを発現するサルモネラ・テスター株を開発することが重要である。

GDL1 細胞は個体レベルで遺伝毒性を検出する *gpt delta* トランスジェニックマウスの肺繊維芽細胞に SV40 large T antigen を発現させて不死化させた細胞株である。制癌剤 cisplatin と transplatin を用い GDL1 細胞のバリデーションを行い、DNA 付加体のホットスポットにおいて変異が観察されることを明らかにした。また GDL1 細胞では内因性の DNA pol  $\kappa$  の発現が観察された。DNA pol  $\kappa$  は、マウス個体においても複数の臓器で発現している。損傷乗り越え型 DNA ポリメラーゼは、ヒトを含む哺乳類においては誤りのない損傷乗り越えを通じて遺伝毒性の回避に貢献していると考えられている。今後は GDL1 細胞および *gpt delta* マウスの損傷乗り越え型 DNA ポリメラーゼの発現を抑制することにより、より低用量で化学物質の遺伝毒性を検出する細胞レベル、個体レベルのテスターを樹立することが必要と考える。

医薬品候補化合物が実験動物を用いる発がん試験において陽性の結果を与えた場合には、遺伝毒性がその作用機序に関連しているかを明らかにする必要がある。すなわち発がんの標的臓器において遺伝毒性を検出する必要がある。発がん試験においては主にラットが使われ、特に F344 ラットが汎用されている。本研究班では、SD 系で開発された遺伝毒性検出用の *gpt delta* トランスジェニックラットを F344 ラットとクロスし、F344 系の *gpt delta* ラットを樹立した。発がん試験で用いられる F344 ラットの標的臓器において遺伝毒性を検出する試験系を樹立したことは、医薬品の発がんリスクを考察する上で大きな貢献と考える。今回の phenacetin 長期投与実験の結果が示すように、発がん遺伝毒性の関連は単純ではなく、発がんの非標的臓器で標的臓器よりも強い遺伝毒性が検出される場合がある。発がんが遺伝毒性に基づく場合には、発がんの標的臓器において遺伝毒性が検出されるが、遺伝毒性が検出された臓器に

おいて必ずがんが誘発されるわけではない。発がんには至らない遺伝毒性のリスクをどのように考えるべきか、今後の課題である。

今期の研究班では、thalidomide などによる胎児毒性（催奇形性）をマウスにおいて検討するモデルを樹立するため、胎児期に発現する CYP3A7 を発現するトランスジェニックマウスを樹立した。このマウスは、従来、ウサギなどでしか観察することのできなかった催奇形性を、マウスを用いて解析できるようにすることを目指しており、催奇形性の機序解明への貢献と合わせて、今後の展開が大いに期待される。

## E. 結論

医薬品の開発初期に有用な遺伝毒性試験系の構築を行った。ヒト遺伝子を発現するハイ・スループット微生物試験菌株を確立し、その評価を行った。発がん性と遺伝毒性の相関を検討するためのトランスジェニックラットおよびトランスジェニックマウス細胞試験系を樹立し、その有用性について検討を進めた。ヒト胎児特異的に発現する CYP3A7 を発現するトランスジェニックマウスを用いた催奇形性検出用の試験系を開発した。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Shimizu, M., Gruz, P., Kamiya, H., Masutani, C., Xu, Y., Usui, Y., Sugiyama, H., Harashima, H., Hanaoka, F. and Nohmi, T. Efficient and erroneous incorporation of oxidized DNA precursors by human DNA polymerase  $\eta$ , *Biochem.*, in press.
- 2) Nohmi, T., Environmental stress and lesion-bypass DNA polymerases, *Ann. Rev. Microbiol.*, 60: 231-253 (2006)
- 3) Takeiri, A., Mishima, M., Tanaka, K., Shioda, A., Harada, A., Watanabe, K., Masumura, K. and Nohmi, T. A newly established GDL1 cell line from *gpt delta* mice well reflects the in vivo mutation spectra induced by mitomycin C, *Mutat. Res.*, 609: 102-115 (2006)
- 4) Ikeda, M., Masumura, K., Matsui, K., Kohno, H., Sakuma, K., Tanaka, T. and Nohmi, T. Chemopreventive effects of nobiletin against genotoxicity induced by 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) in the lung of *gpt delta* transgenic mice, *Genes and Environ.* 28:

- 84-91 (2006)
- 5) 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*, 5: 465-478 (2006)
  - 6) 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)
  - 7) Mitani, Y., Lezhava, A., Kawai, Y., Kikuchi, T., Oguchi-Katayama, A., Kogo, Y., Itoh, M., Miyagi, T., Takakura, H., Hoshi, K., Kato, C., Arakawa, T., Shibata, K., Fukui, K., Masui, R., Kuramitsu, S., Kiyotani, K., Chalk, A., Tsunekawa, K., Murakami, M., Kamataki, T., Oka, T., Shimada, H., Cizdziel, P.E. and Hayashizaki, Y., Rapid SNP diagnostics using asymmetric isothermal amplification and a new mismatch-suppression technology. *Nat Methods*, in press.
  - 8) Saruwatari, J., Matsunaga, M., Ikeda, K., Nakao, M., Oniki, K., Seo, T., Mihara, S., Marubayashi, T., Kamataki, T. and Nakagawa, K., Impact of CYP2D6\*10 on H1-antihistamine-induced hypersomnia. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 62: 995-1001 (2006)
  - 9) Takasuna, K., Hagiwara, T., Watanabe, K., Onose, S., Yoshida, S., Kumazawa, E., Nagai, E. and Kamataki, T. Optimal antidiarrhea treatment for antitumor agent irinotecan hydrochloride (CPT-11)-induced delayed diarrhea. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 58: 494-503 (2006)
  - 10) Kuribayashi, S., Ueda, N., Naito, S., Yamazaki, H. and Kamataki, T., Species differences in hydrolase activities toward OT-7100 responsible for different bioavailability in rats, dogs, monkeys and humans. *Xenobiotica*, 36: 301-314 (2006)
  - 11) Iwano, S., Shibahara, N., Saito, T. and Kamataki, T., Activation of p53 as a causal step for atherosclerosis induced by polycyclic aromatic hydrocarbons. *FEBS Lett.*, 580: 890-893 (2006)
  - 12) Oda, Y., Totsuka, Y., Wakabayashi, K., Guengerich, F.P., and Shimada, T., Activation of aminophenylnorharman, Aminomethylphenylnorharman and aminophenylharman to genotoxic metabolites by human *N*-acetyltransferases and cytochrome P450 enzymes expressed in *Salmonella typhimurium umu* tester strains, *Mutagenesis*, 21: 411-416 (2006)
- ## 2. 学会発表
- 1) Yamada, M., Hidaka, K., Kamiya, H., Masutani, C., Harashima, H., Hanaoka, F. and Nohmi, T., Specificity of mutations associated with misincorporation of oxidized dNTPs by human DNA polymerase  $\eta$  in vitro Gordon Research Conference-Mammalian DNA Repair (February, 2007)
  - 2) Oda, Y., Totsuka, Y. and Wakabayashi, K., Genotoxic activation of *N*-hydroxyaminophenylnorharman by human sulfotransferases expressing in *Salmonella typhimurium umu* tester strains, 37<sup>th</sup> Annual Meeting of the Environmental Mutagen Society in Vancouver, Canada, (September, 2006)
  - 3) 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, in Ventura, CA, U.S.A., (March, 2006)
  - 4) 湯本聡一、齊藤俊光、小田美光、金谷一司、umu試験用試薬キット（マイクロプレート法）のアミノ酸の影響評価と高感度ハイスループット化に向けた検討、日本環境変異原学会第35回大会（2006, 11）
- ## G. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得  
なし
  2. 実用新案登録  
なし
  3. その他  
なし



---

平成18年度  
政策創薬総合研究  
重点研究報告書(Ⅰ)

平成19年7月31日発行

発行 財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団  
〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町13番4号  
共同ビル(小伝馬町駅前)4F  
電話 03(3663)8641 FAX 03(3663)0448

---

印刷 株式会社 ソーラン社