

BF282054	Similar to RIKEN cDNA 1110055L24 (predicted)	RGD1307606_predicted	1.98*	2.09*
BI284441	Collectin sub-family member 12	Colec12	1.51	2.07*
BI300393	EST, strongly similar to NP_082289.1 hypothetical protein LOC71946 [Mus musculus]	---	1.55	2.06*
BG378301	Kinesin family member 13A (predicted)	---	1.44	2.06*
NM_024356	GTP cyclohydrolase 1	Gch	1.53	2.05*
AI101660	---	---	1.47	2.05*
NM_022858	HNF-3/forkhead homolog-1	Foxq1	1.79	2.05*
AI576252	EST	---	1.51	2.05*
AI072951	Schlafen 5 (predicted)	---	1.64	2.04*
NM_133578	Dual specificity phosphatase 5	Dusp5	1.74*	2.02*
BE106526	Solute carrier family 6 (neurotransmitter transporter, GABA), member 11	Slc6a11	1.44	1.98*
NM_012874	v-ros UR2 sarcoma virus oncogene homolog 1 (avian)	Ros1	1.59	1.98*
AI175048	Sine oculis homeobox homolog 1 (Drosophila)	Six1	1.62*	1.96*
NM_013057	Coagulation factor 3	F3	1.62	1.96*
AI406487	---	---	1.60	1.95*
AI009823	Secreted and transmembrane 1	Sectm1	1.65	1.94*
AW533010	Basic helix-loop-helix domain containing, class B2	Bhlhb2	1.68*	1.91*
AW521192	Protocadherin 9 (predicted)	Pcdh9_predicted	1.27	1.90*
BF397243	---	---	1.79*	1.90*
AI500925	---	---	1.61	1.90*
BI294137	Hexokinase 2	Hk2	1.20	1.87*
AW529192	COP9 constitutive photomorphogenic homolog subunit 3	RGD:1303002	1.57*	1.84*
BF417576	EST, strongly similar to XP_574983.1 PREDICTED: hypothetical protein XP_574983 [Rattus norvegicus]	---	1.40	1.83*
BG374192	Microtubule-associated protein 7 (predicted)	Mtap7_predicted	1.65*	1.83*
BI286387	Similar to Cornifin alpha (Small proline-rich protein 1) (SPRR1)	LOC499660	1.46	1.81*
BF410753	Kelch domain containing 3 (predicted)	Klhdc3_predicted	1.75*	1.76
BE117105	Cyclin-dependent kinase 7 (homolog of Xenopus MO15 cdk-activating kinase)	Cdk7	1.35	1.72*
BI279017	Period homolog 1 (Drosophila)	Per1	0.96	1.65

a: the value is fold-change when the expression level in the non-tumor portions was calculated as 1.

*: p<0.05 vs. non-tumor portions (ANOVA)

Table 2-2. List of down-regulated genes only in the follicular carcinomas of rats treated with SDM for 15 weeks after DHPN-initiation (≤ 0.5 -fold: 142 genes).

Accession No.	Gene title	Symbol	FFCH+Adenoma	Carcinoma
BI284344	Keratin complex 2, basic, gene 7 (predicted)	Krt2-7_predicted	0.86*	0.25*
BF558981	Protocadherin 17 (predicted)	---	0.49	0.26*
BE104098	Meis1, myeloid ecotropic viral integration site 1 homolog 2 (predicted)	Meis2_predicted	0.48	0.26*
AA924754	Paired related homeobox 1	Prrx1	0.50	0.27*
BM390253	Decorin	Dcn	0.76	0.27*
BF564825	EST	---	0.58	0.28*
BE113381	EST	---	0.53	0.28*
AW524694	EST	---	0.55	0.28*
BG377116	ATPase, H ⁺ transporting, lysosomal V0 subunit A isoform 4 (predicted)	Atp6v0a4_predicted	0.51	0.29*
BI295930	Similar to RIKEN cDNA 1200003C23 (predicted)	RGD1306232_predicted	0.60	0.30*
BI303923	Similar to integrin, beta-like 1	LOC498564	0.70	0.31*
AI710931	---	---	0.52	0.31*
AW523759	Reversion-inducing-cysteine-rich protein with kazal motifs (predicted)	Reck_predicted	0.65	0.32*
BE104219	Similar to MADS box transcription enhancer factor 2, polypeptide C (myocyte enhancer factor 2C)	LOC499497	0.58	0.32*
AA819332	EST, weakly similar to XP_576460.1 PREDICTED: similar to hypothetical protein PB402898.00.0 [Rattus norvegicus]	---	0.59	0.32*
U78517	cAMP-regulated guanine nucleotide exchange factor II	Rapgef4	0.65	0.32*
NM_031050	Lumican	Lum	0.99	0.33*
BE108956	EST	---	0.64	0.33*
AI168981	EST	---	0.65	0.33*
AF000942	Inhibitor of DNA binding 3, dominant negative helix-loop-helix protein	Id3	0.57	0.33*
BI282008	---	---	0.62	0.34*
AA945708	Calcitonin receptor-like	Calcr1	0.59	0.34*
NM_030834	Monocarboxylate transporter	Slc16a3	0.52	0.35*
BE110761	Zinc finger homeobox 1b	---	0.71	0.35*
AA818521	Thrombomodulin	Thbd	0.64	0.35*
NM_012769 (BF399387)	Guanylate cyclase 1, soluble, beta 3 (Guanylate cyclase 1, soluble, beta 3)	Gucy1b3 (Gucy1b3)	0.54 (0.71)	0.35* (0.40)*
BF283404	EST	---	0.62	0.35*
BG379771	Similar to regulatory factor X-associated protein	---	0.57	0.35*
BI301453	Creatine kinase, mitochondrial 1, ubiquitous	Ckmt1	0.49	0.35*
BF409213	Phospholipase C, beta 1	Plcb1	0.75	0.36*
AA926109	EST	---	0.81	0.36*
AI578087 (AW435343)	Transmembrane 4 superfamily member 1 (predicted) (Transmembrane 4 superfamily member 1 (predicted))	Tm4sf1_predicted (Tm4sf1_predicted)	0.64 (0.74)	0.36* (0.48)*
BG376748	EST	---	0.52	0.36*
AA801220	EST	---	0.60	0.37*
BI279605	Keratin complex 1, acidic, gene 19	Krt1-19	0.77	0.37*
BF282814	Ral guanine nucleotide dissociation stimulator, -like 1 (predicted)	---	0.59	0.38*
AI172271	Endomucin	Emcn	0.58	0.38*
AI071994	Dickkopf homolog 4 (<i>Xenopus laevis</i>) (predicted)	---	0.83	0.38*
AI453930	EST	---	0.51	0.38*
AI178012	Retinoblastoma 1	Rb1	0.75	0.38*
BF401583	Osmotic stress protein 94 kDa (predicted)	OSP94_predicted	0.51	0.38*
AI179984	Serine (or cysteine) proteinase inhibitor, clade F, member 1	Serpinf1	0.78	0.38*
AI009714	Serum deprivation response protein	RGD:1359345	0.45	0.39*
BG670559	---	---	0.62	0.39*
BE099808	EST	---	0.69	0.39*
BF288208	EST	---	0.57	0.39*
AI111767	EST	---	0.53	0.39*

NM_030994	Integrin alpha 1	Itga1	0.57	0.39*
BF410146	Heat shock protein 2	Hspa2	0.63	0.39*
NM_017061	Lysyl oxidase	Lox	0.81	0.39*
(BI304009)	(Lysyl oxidase)	(Lox)	(0.91)	(0.49)*
AW435211	Transcription factor 4	Tcf4	0.70	0.39*
BG378849	EST, moderately similar to XP_580018.1 PREDICTED: hypothetical protein XP_580018 [Rattus norvegicus]	---	0.54	0.40*
BE115766	Basic helix-loop-helix domain containing, class B5 (predicted)	Bhlhb5_predicted	0.55	0.40*
AA801395	EST	---	0.61	0.40*
AA819397	DEP domain containing 2 (predicted)	---	0.67	0.40*
BE116009	Inhibitor of DNA binding 4	Idb4	0.56	0.40*
AW527319	EST	---	0.54	0.40*
AI602501	LIM and cysteine-rich domains 1 (predicted)	Lmcd1_predicted	0.58	0.40*
AI409186	Similar to hypothetical protein FLJ20898	RGD:1359314	0.58	0.40*
NM_019904	Lectin, galactose binding, soluble 1	Lgals1	0.59	0.40*
NM_053713	Kruppel-like factor 4 (gut)	Klf4	0.67	0.40*
U44948	Cysteine and glycine-rich protein 2	RGD:61950	0.55	0.40*
AI577318	A disintegrin-like and metalloprotease (reprolysin type) with thrombospondin type 1 motif, 8 (predicted)	---	0.95	0.41*
NM_022294	EGF, latrophilin seven transmembrane domain containing 1	Eltid1	0.57	0.41*
BF284922	EST	---	0.68	0.41*
NM_133526	Transmembrane 4 superfamily member 3	Tm4sf3	0.70	0.41*
AA892770	Glutamate-cysteine ligase, catalytic subunit	Gclc	0.61	0.41*
BE116566	Neuropilin 1	Nrp	0.65	0.42*
(AF016296)	(Neuropilin 1)	(Nrp1)	(0.70)	(0.46)*
AA998043	Similar to PHD finger protein 20-like 1 isoform 1	---	0.70	0.42*
AW533857	EST	---	0.64	0.42*
J02679	NAD(P)H dehydrogenase, quinone 1	Nqo1	0.57	0.42*
AW532329	Phosphatase and actin regulator 1	Phactr1	0.65	0.42*
AW529939	EST	---	0.71	0.42*
AI137961	Similar to colonic system B0+ amino acid transporter	LOC298340	0.68	0.42*
BM391921	Protein tyrosine phosphatase, receptor type, B (predicted)	Ptprb_predicted	0.56	0.42*
NM_019229	Solute carrier family 12, member 4	Slc12a4	0.64	0.42*
AA818807	Epithelial membrane protein 2	RGD:1359629	0.59	0.43*
BI285485	Dermatopontin (predicted)	Dpt_predicted	0.66	0.43*
AI555744	FYVE, RhoGEF and PH domain containing 5 (predicted)	Fgd5_predicted	0.55	0.43*
AI169239	EST	---	0.63	0.43*
BG671734	EST	---	0.66	0.43*
AI058947	Solute carrier family 36 (proton/amino acid symporter), member 4 (predicted)	---	0.66	0.44*
AA817802	Transcribed locus	---	0.68	0.44*
AI072658	---	---	0.60	0.44*
BI279680	CDNA clone IMAGE:7319904	---	0.99	0.44*
BI275818	Serine (or cysteine) proteinase inhibitor, clade E, member 2	Serpine2	0.71	0.44*
AI235465	Steroid sensitive gene 1	Ssg1	0.67	0.44*
BI295949	Stomatin (predicted)	Stom_predicted	0.63	0.44*
BI294696	EST	---	0.60	0.44*
BI300566	EST	---	0.58	0.44*
BF283398	Chemokine (C-X-C motif) ligand 12	Cxcl12	1.11	0.44*
AI043753	EST	---	0.68	0.44*
M86708	Inhibitor of DNA binding 1, helix-loop-helix protein (splice variation)	Id1	0.64	0.44*
BM389769	Phosphofructokinase, platelet	Pfcp	0.60	0.44*
BG378155	Similar to hypothetical protein MGC17839	---	0.59	0.44*
NM_017226	Peptidyl arginine deiminase, type II	Padi2	0.59	0.45*
AI112988	EST	---	0.65	0.45*
AI234044	Transmembrane 4 superfamily member 2	Tm4sf2	0.56	0.45*
BI275894	EST	---	0.62	0.45*
BI286164	Transforming acidic coiled coil 2	RGD:1303004	0.55	0.45*
BI295477	G protein-coupled receptor 116	Gpr116	0.61	0.45*
BI282932	Lymphocyte antigen 68	C1qr1	0.62	0.45*
AF109393	Podocalyxin-like	Podxl	0.62	0.45*
BE102340	EST	---	0.67	0.45*
BE115639	EST	---	0.56	0.45*

BI285449	---	---	0.68	0.46*
NM_022538	Phosphatidic acid phosphatase 2a	Ppap2a	0.58	0.46*
AI059150	Similar to integrin alpha 8	Itga8	0.74	0.46*
BF398185	LOC498208	LOC498208	0.63	0.46*
AI008689	Transforming, acidic coiled-coil containing protein 1a	RGD:1303120	0.67	0.46*
BF401392	---	---	0.76	0.46*
NM_021587	Latent transforming growth factor beta binding protein 1	Ltbp1	0.83	0.46*
BF283627	Similar to Grb10 protein	---	0.75	0.46*
BI294743	GTPase, IMAP family member 5	Gimap5	0.59	0.46*
AI172217	Similar to hypothetical protein PRO0971	---	0.72	0.46*
BF397903	EST	---	0.57	0.47*
NM_012798	Myelin and lymphocyte protein	Mal	0.61	0.47*
BE117485	EST	---	0.53*	0.47*
BM389654	Similar to hypothetical protein FLJ11342	---	0.70	0.47*
AI408151	Unknown (protein for MGC:72974)	MGC72974	0.52*	0.47*
BG371544	EST	---	0.62	0.47*
BF410844	Similar to actin-related protein 3-beta	LOC362298	0.54	0.48*
AI008792	Inhibitor of DNA binding 2, dominant negative helix-loop-helix protein	Id2	0.68	0.48*
BI281836	---	---	0.64	0.48*
AI601956	EST	---	0.64	0.48*
AW917760	Similar to Myoferlin (Fer-1 like protein 3)	LOC309499	0.63	0.48*
NM_030829	G protein-coupled receptor kinase 5	Gprk5	0.66	0.48*
BF410842	Similar to chondroitin sulfate GalNAcT-2	---	0.68	0.49*
D28875	Secreted acidic cysteine rich glycoprotein	Sparc	0.77	0.49*
BM390497	Similar to Protein C8orf1 (hT41) (predicted)	RGD1306323_predicted	0.73	0.49*
BM390571	Sulfotransferase family, cytosolic, 2B, member 1 (predicted)	Sult2b1_predicted	0.55	0.50*
AI639162	EST	---	0.58	0.50*
BG665037	Follistatin-like 1	Fstl1	0.82	0.50*
NM_019371	Hypothetical gene supported by NM_019371	LOC497816	0.74	0.50*
AI009530	Unknown (protein for MGC:72614)	RGD:735075	0.83	0.51*
AI178168	Similar to RIKEN cDNA 5830480G12	RGD:1359304	0.72	0.51*
BF394158	Nuclear receptor subfamily 3, group C, member 1	Nr3c1	0.97	0.51*
AW141858	Dysferlin (predicted)	Dysf_predicted	0.82	0.51*
BE107309	EST	---	0.59	0.51*
BF400937	EST, strongly similar to XP_579825.1 PREDICTED: hypothetical protein XP_579825 [Rattus norvegicus]	---	0.85	0.52*
AW530081	EST	---	0.74	0.53*
NM_031646	Receptor (calcitonin) activity modifying protein 2	Ramp2	0.68	0.55*

a: the value is fold-change when the expression level in the non-tumor portions was calculated as 1.

*: p<0.05 vs. non-tumor portions (ANOVA)

Table 3-1. List of genes showing up-regulation common to the focal follicular cell hyperplasias (FFCHs) + adenomas and carcinomas of rats treated with SDM for 10 or 15 weeks after DHPN-initiation (≥ 2 -fold: 93 genes).

Accession No.	Gene title	Symbol	FFCH+Adenoma	Carcinoma
BI279202	Similar to ovostatin-2	LOC362442	12.81 ^a	21.11 [*]
BF283924	Lysosomal-associated membrane protein 3 (predicted)	Lamp3_predicted	13.65 [*]	15.86 [*]
AA945643	Chitinase 3-like 1	Chi3l1	7.46 [*]	8.55 [*]
AB030829	Carbonic anhydrase 3	Ca3	7.42 [*]	8.39 [*]
U07886	Clone 15 polymeric immunoglobulin receptor mRNA, 3'UTR microsatellite repeats	---	4.68	6.99 [*]
BI285347	Complement component 4a /// complement component 4, gene 2	C4a /// C4-2	5.51	6.94 [*]
NM_133622	Common salivary protein 1	RGD:708577	4.94	6.37 [*]
AI412189	Immunoglobulin heavy chain (alpha polypeptide)	Igha	2.53	6.14 [*]
NM_053380	Solute carrier family 34 (sodium phosphate), member 2	Slc34a2	4.75	5.79 [*]
BM385244	EST	---	4.97 [*]	5.61 [*]
NM_021751	Prominin 1	Prom1	4.26	5.53 [*]
NM_019225	Solute carrier family 1 (glial high affinity glutamate transporter), member 3	Slc1a3	4.76	5.34 [*]
NM_016994	Complement component 3	C3	4.20	5.06 [*]
AW917217	EST	---	2.99	4.82 [*]
L07316	Dipeptidase 1 (renal)	Dpep1	3.70	4.37 [*]
BE106398	EST	---	2.71	4.33 [*]
BF561222	EST	---	2.53	4.13 [*]
NM_012532	Ceruloplasmin	Cp	3.32	4.12 [*]
(AF202115)	(Ceruloplasmin)	(Cp)	(2.43)	(2.79) [*]
Y00714	Alkaline phosphatase, tissue-nonspecific	Alpl	3.17	3.96 [*]
AA799832	Forkhead box D4	Foxd4	2.48	3.81 [*]
AI044529	---	---	2.71	3.78 [*]
AF411318	Metallothionein	Mt1a	2.11	3.77 [*]
AA819913	Carbohydrate (keratan sulfate Gal-6) sulfotransferase 1 (predicted)	Chst1_predicted	2.77	3.75 [*]
AI169104	Platelet factor 4	Pf4	2.52	3.71 [*]
NM_022278	Glutaredoxin 1 (thioltransferase)	Glx1	3.63 [*]	3.70 [*]
AI716125	Complement component 2	C2	3.02	3.58 [*]
(AI716125)	(Complement component 2)	(C2)	(2.31)	(3.02) [*]
NM_012522	Cystathionine beta synthase	Cbs	2.41	3.55 [*]
BF389287	EST	---	2.61	3.48 [*]
BF546645	Palate, lung, and nasal epithelium carcinoma associated	Plunc	5.28 [*]	3.41
BE097981	Phosphatidylinositol 4-kinase type 2 alpha	Pi4KII	2.66	3.36 [*]
AI764437	EST	---	3.18 [*]	3.30 [*]
U46118	Cytochrome P450, family 3, subfamily a, polypeptide 13	Cyp3a13	2.86	3.30 [*]
AI070944	Hypothetical gene supported by NM_022858	Foxq1	2.73	3.29 [*]
BE113272	EST	---	2.98	3.25 [*]
AI228417	Sema domain, immunoglobulin domain (Ig), transmembrane domain (TM) and short cytoplasmic domain, (semaphorin) 4A (predicted)	Sema4a_predicted	2.51	3.24 [*]
BI294746	Similar to mKIAA0657 protein	LOC363257	2.33	3.22 [*]
AI045116	EST	---	2.10	3.11 [*]
NM_031670	Napsin A aspartic peptidase	Napsa	2.48	3.08 [*]
AI101323	Ets variant gene 5 (ets-related molecule) (predicted)	Etv5_predicted	3.14 [*]	3.01 [*]
AW521711	RIM binding protein 2	LOC266780	2.26	2.99 [*]
(BE102826)	(RIM binding protein 2)	(Rimbp2)	(2.19) [*]	(2.23) [*]
AI454611	Flavin containing monooxygenase 5	Fmo5	2.60 [*]	2.93 [*]
BF392753	EST	---	2.83 [*]	2.93 [*]
BI290559	Microsomal glutathione S-transferase 2 (predicted)	Mgst2_predicted	2.45 [*]	2.90 [*]
BF417890	Antigen p97 (melanoma associated) identified by monoclonal antibodies 133.2 and 96.5 (predicted)	---	1.78	2.90 [*]
AI712997	EST	---	2.95 [*]	2.86 [*]

NM_024157	Complement factor I	Cfi	3.45*	2.85
NM_012707	Glucagon	Gcg	3.07*	2.79*
NM_013122	Insulin-like growth factor binding protein 2	Igfbp2	2.51	2.78*
BI294910	Carbonic anhydrase 8 (predicted)	Car8_predicted	1.92	2.68*
NM_053431	Quiescin Q6	Qscn6	2.06	2.57*
BE109305	---	---	2.30	2.56*
NM_133309	Calpain 8	Capn8	2.06	2.55*
AA901341	Solute carrier family 2 (facilitated glucose transporter), member 3	Slc2a3	2.68*	2.53*
NM_019214	Solute carrier family 26, member 4	Slc26a4	2.83*	2.52
AW142962	Prolactin receptor	Prlr	2.22	2.46*
BF399385	EST	---	2.52*	2.45*
BG379319	Transforming growth factor, beta induced	Tgfb1	3.41*	2.41
BI279526	RT1 class II, locus Db1	RT1-Db1	2.66*	2.41*
(BI279526)	(RT1 class II, locus Db1)	(RT1-Db1)	(2.20)*	(2.31)*
BF398196	EST	---	2.18	2.40*
AI555054	EST	---	2.00	2.40*
BM391164	Similar to RIKEN cDNA 1810059A23	---	2.17*	2.39*
BI286411	Similar to keratin 6 alpha	Krt5	2.41*	2.38*
BF411904	Similar to Eph receptor A4	LOC316539	3.51*	2.38
NM_013069	CD74 antigen (invariant polypeptide of major histocompatibility class II antigen-associated)	Cd74	2.16*	2.37*
AA859652	Solute carrier family 16 (monocarboxylic acid transporters), member 6	Slc16a6	2.28*	2.33*
(BG372184)	(Solute carrier family 16 (monocarboxylic acid transporters), member 6)	(Slc16a6)	(2.25)*	(2.24)*
AI576602	Ring-box 1	---	2.38*	2.31*
AI555805	SRX-box containing gene 30 (predicted)	Adam19	2.13*	2.31*
BE107556	EST	---	2.11	2.30*
AI715202	RT1 class II, locus Bb	RT1-Bb	2.19*	2.28*
AI045104	Opioid growth factor receptor-like 1	---	1.70	2.27*
BE102969	Ets variant gene 4 (E1A enhancer binding protein, E1AF) (predicted)	Etv4_predicted	2.62*	2.25
AI101583	Transient receptor potential cation channel, subfamily V, member 6	Trpv6	2.01	2.25*
BE105713	EST	---	2.36*	2.23
AF245172	Guanine deaminase	Gda	2.33*	2.21*
BF420311	Autism susceptibility candidate 2 (predicted)	---	2.26*	2.21*
AI043832	EST	---	2.08*	2.21*
AI179953	Gap junction membrane channel protein beta 2	Gjb2	2.22*	2.20*
BI292917	EST	---	2.16*	2.19*
BI290527	T-box 2 (predicted)	Tbx2	2.66*	2.19
BM389807	Gamma-glutamyltransferase-like activity 1	Ggta1	2.25*	2.19*
BM386541	Fibronogen-like protein 1	Fgl1	2.25*	2.18*
BF410275	---	---	2.24*	2.17*
BE120316	EST	---	2.27*	2.15*
BM389391	Protease, serine, 22 (predicted)	Prss22_predicted	3.08*	2.12
BE119221	Actinin, alpha 1	Actn1	2.11*	2.09*
NM_021744	CD14 antigen	Cd14	2.53*	2.08
BF412512	EST	---	1.94*	2.05*
AI549022	Similar to Hypothetical protein MGC57096	LOC310463	2.22*	2.02
AI044316	Runt related transcription factor 1	Runx1	2.22*	1.96
BE120425	Calcium/calmodulin-dependent protein kinase II gamma	Camk2g	2.17*	1.90*
BE096812	Transcriptional co-activator with PDZ-binding motif (TAZ)	---	2.03*	1.78
BE107197	Trinucleotide repeat containing 6 (predicted)	---	1.95*	1.74
AI717081	Protein phosphatase 2 (formerly 2A), regulatory subunit B (PR52), alpha isoform	Ppp2r2a	2.09*	1.73

a: the value is fold-change when the expression level in the non-tumor portions was calculated as 1.

*: p<0.05 vs. non-tumor portions (ANOVA)

Table 3-2. List of genes showing down-regulation common to the focal follicular cell hyperplasias (FFCHs) + adenomas and carcinomas of rats treated with SDM for 10 or 15 weeks after DHPN-initiation (≤ 0.5 -fold: 53 genes).

Accession No.	Gene title	Symbol	FFCH+Adenoma	Carcinoma
NM_053856	Secretogranin III	Scg3	0.16 ^{**}	0.15 [*]
NM_022407	Aldehyde dehydrogenase family 1, member A1	Aldh1a1	0.34	0.18 [*]
NM_017338	Calcitonin/calcitonin-related polypeptide, alpha	Calca	0.22 [*]	0.19 [*]
(NM_017338)	(Calcitonin/calcitonin-related polypeptide, alpha)	(Calca)	(0.45) [*]	(0.39) [*]
(M11597)	(Calcitonin/calcitonin-related polypeptide, alpha)	(Calca)	(0.36) [*]	(0.39)
BG673169	EST, strongly similar to NP_080169.1 SMAD-interacting zinc finger protein 2 [Mus musculus]	---	0.24 [*]	0.19 [*]
AA818900	Similar to cysteine and tyrosine-rich protein 1	RGD:1359578	0.47	0.20 [*]
BG662710	LOC501538	LOC501538	0.49	0.21 [*]
BI294141	Angiopoietin 4 (predicted)	Agpt4_predicted	0.36	0.22 [*]
NM_019278	Regulated endocrine-specific protein 18	Resp18	0.25	0.23 [*]
AA894210	EST	---	0.33	0.23 [*]
NM_012935	Crystallin, alpha B	Cryab	0.38	0.25 [*]
BI294788	EST	---	0.47	0.26 [*]
NM_022384	Achaete-scute complex homolog-like 1 (Drosophila)	Ascl1	0.31	0.27 [*]
AI176041	Pirin	RGD:1359212	0.45	0.27 [*]
BF393275	EST	---	0.40	0.27 [*]
AW525315	Poliovirus receptor-related 3 (predicted)	Pvr13_predicted	0.46	0.28 [*]
(AI103913)	(Poliovirus receptor-related 3 (predicted))	(Pvr13_predicted)	(0.44)	(0.31) [*]
NM_013060	Inhibitor of DNA binding 2, dominant negative helix-loop-helix protein	Id2	0.47	0.28 [*]
NM_021653	Deiodinase, iodothyronine, type I	Dio1	0.34 [*]	0.29 [*]
BG375354	Similar to hypothetical protein FLJ14146 (predicted)	RGD1310587_predicted	0.45	0.30 [*]
BI279587	EST	---	0.46	0.30 [*]
NM_022276	Glucosaminyl (N-acetyl) transferase 1, core 2	Gcnt1	0.44	0.30 [*]
BG377887	Glial cell line derived neurotrophic factor family receptor alpha 3	Gfra3	0.39	0.31 [*]
AA926037	EST	---	0.33 [*]	0.32 [*]
AA860047	EST	---	0.30 [*]	0.32 [*]
BI276110	Retinoic acid induced 3 (predicted)	Rai3_predicted	0.48	0.33 [*]
NM_012526	Chromogranin B	Chgb	0.36 [*]	0.33 [*]
AW533083	EST	---	0.31 [*]	0.33 [*]
NM_012829	Cholecystokinin	Cck	0.51	0.34 [*]
AI639181	EST	---	0.43	0.34 [*]
BE328961	EST	---	0.38 [*]	0.34 [*]
AA963085	EST	---	0.44	0.34 [*]
AW526095	EST	---	0.45	0.34 [*]
BF392634	EST	---	0.44	0.35 [*]
BM385358	EST	---	0.40 [*]	0.35 [*]
NM_031796	UDP-N-acetyl-alpha-D-galactosamine:polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase 5	Galnt5	0.44	0.35 [*]
AI237035	EST	---	0.44	0.35 [*]
BF285611	Similar to teratocyte-specific carboxylesterase	---	0.44	0.36 [*]
AI227742	Bcl-2-related ovarian killer protein	Bok	0.44	0.36 [*]
BF386692	EST	---	0.28 [*]	0.37
AW526551	Similar to NCAG1 (predicted)	RGD1307724_predicted	0.53	0.37 [*]
AI603408	Serum deprivation response protein	RGD:1359345	0.41 [*]	0.38 [*]
NM_024141	Dual oxidase 2	Duox2	0.46	0.39 [*]
NM_053428	Fibroblast growth factor 13	Fgf13	0.34 [*]	0.39 [*]
NM_013219	Ca ²⁺ -dependent activator protein for secretion	Cadps	0.47	0.40 [*]
U03415	Olfactomedin 1	Olfm1	0.30 [*]	0.40

BG379237	EST	---	0.46*	0.42*
AI102382	EST	---	0.40*	0.42*
BF420110	Phospholipase C-like 2 (predicted)	Plcl2_predicted	0.48	0.43*
AI236229	RNA binding motif protein 24 (predicted)	Cap2	0.47*	0.45*
AF019973	Enolase 2, gamma	Eno2	0.47	0.46*
NM_024128	Neuron specific gene family member 1	Nsg1	0.51	0.47*
AA799574	L-3-hydroxyacyl-Coenzyme A dehydrogenase, short chain	Hadhsc	0.52*	0.48*
AA819250	Similar to Hypothetical protein MGC30714	LOC500065	0.49*	0.49*
BI291703	Similar to specifically androgen-regulated protein	LOC498222	0.46*	0.51

a: the value is fold-change when the expression level in the non-tumor portions was calculated as 1.

*: p<0.05 vs. non-tumor portions (ANOVA)

Table 4-1. List of genes showing dose-related up-regulation by FB in the two-stage hepatocarcinogenesis model (≥ 2 -fold).

Accession No.	Gene title	Symbol	DEN+FB (ppm)		
			400	1200	3600
<i>From 400 ppm</i>					
M35300	ATPase inhibitory factor 1	Atpif1	2.54 ^a	2.93 [*]	3.55 [*]
AI764218	Inner membrane protein, mitochondrial	Immt	3.28	3.35	2.93
AI717047	Camello-like 5	Cml5	2.23	2.23	2.88 [*]
BI300393	EST	---	2.16 [*]	2.07 [*]	2.08 [*]
<i>From 1200 ppm</i>					
AI233740	Aldo-keto reductase family 1, member B8	Akr1b8	0.93	2.30	15.45 [*]
BF395101	EST	---	1.46	2.63 [*]	3.84 [*]
AA817761	Alcohol dehydrogenase 1 (class I)	Adh1	1.48	2.35 [*]	3.71 [*]
AY081218	pregnancy-induced growth inhibitor	Ok138	1.21	2.85 [*]	3.48 [*]
AW524476	Transcription factor CP2-like 1 (predicted)	Tcfcp2l1_predicted	1.48	2.52 [*]	3.46 [*]
BM390378	Similar to Glutathione S-transferase, theta 3 (predicted)	RGD1562732_predicted	1.42	2.09 [*]	2.49 [*]
NM_024355	Axin2	Axin2	1.71	2.06 [*]	2.38 [*]
BE109434	---	---	1.85	2.55 [*]	2.36 [*]
BM386061	EST, strongly similar to XP_218780.2 PREDICTED: similar to ASK1 [Rattus norvegicus]	---	1.56	2.09 [*]	2.20 [*]

a: the value is fold-change when the expression level in the DEN-alone group was calculated as 1.

*: $p < 0.05$ vs. DEN-alone (ANOVA)

Table 4-2. List of genes showing dose-related down-regulation by FB in the two-stage hepatocarcinogenesis model (≤ 0.5 -fold).

Accession No.	Gene title	Symbol	DEN+FB (ppm)		
			400	1200	3600
<i>From 400 ppm</i>					
U56241	v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene family, protein B (avian)	Mafb	0.42 ^a	0.29 [*]	0.29 [*]
BE110108	Dual specificity phosphatase 1	Dusp1	0.31 [*]	0.30 [*]	0.41 [*]
(U02553)	(Dual specificity phosphatase 1)	(Dusp1)	(0.38) [*]	(0.32) [*]	(0.44) [*]
<i>From 1200 ppm</i>					
AW530361	Protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 3C	Ppp1r3c	0.93	0.44	0.22 [*]
(BM390827)	(Protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 3C)	(Ppp1r3c)	(0.71)	(0.39)	(0.24) [*]
AA900536	EST	---	0.51	0.36 [*]	0.37 [*]
NM_057133	Nuclear receptor subfamily 0, group B, member 2	Nr0b2	0.61	0.47 [*]	0.40 [*]

a: the value is fold-change when the expression level in the DEN-alone group was calculated as 1.

*: $p < 0.05$ vs. DEN-alone (ANOVA)

Table 5-1. List of genes showing up- or down-regulation common to fenbendazole (FB) and phenobarbital (PB) in the two-stage hepatocarcinogenesis model (≥ 2 -fold, ≤ 0.5 -fold).

Accession No.	Gene title	Symbol	DEN+FB 3600 ppm	DEN+PB 500 ppm
<i>Up-regulated genes</i>				
AI639412	Similar to asporin precursor	LOC306805	4.08*	2.24*
AA817761	Alcohol dehydrogenase 1 (class I)	Adh1	3.71**	2.01*
AY081218	Pregnancy-induced growth inhibitor	Ok138	3.48**	3.65**
NM_031665	Syntaxin 6	Stx6	3.45*	3.08**
AI410262	EST	-	2.77*	2.40*
AI171656	Bicaudal C homolog 1 (Drosophila)	Bicc1_predicted	2.71**	2.54**
AW527797	EST	-	2.63	2.66
AW435169	Ab2-427	LOC500084	2.52*	2.79**
BE112720	Protein arginine N-methyltransferase 5	Prmt5_predicted	2.42**	1.98**
BF417032	Transferrin receptor	Tfrc	2.40**	2.13*
(M58040)	(Transferrin receptor)	(Tfrc)	(2.33)**	(2.15)**
NM_031512	Interleukin 1 beta	Il1b	2.36**	2.14*
BG380736	Similar to Hepatocellular carcinoma- associated antigen 58 homolog	RGD1305020_predicted	2.26**	2.48**
AI511280	Similar to outer dense fiber of sperm tails 2-like	LOC685425	2.18**	2.26*
AA891521	Spermatogenesis associated 9	Spta9_predicted	2.03*	2.38*
AW521797	Similar to chromosome 18 open reading frame 54	LOC361346	2.03*	1.60
<i>Down-regulated genes</i>				
BG374180	EST	---	0.21	0.45
AW530361	Protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 3C	Ppp1r3c	0.22*	0.39
(BM390827)	(Protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 3C)	(Ppp1r3c)	(0.24)*	(0.31)
U56241	v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene family, protein B (avian)	Mafb	0.29**	0.45*
BI285940	EST	---	0.30*	0.35*
AA956038	EST	---	0.33**	0.39*
BE120455	---	---	0.37*	0.38*
NM_057133	Nuclear receptor subfamily 0, group B, member 2	Nr0b2	0.40*	0.31*
BF391129	Progressive ankylosis homolog (mouse)	Ank	0.41*	0.50
BE110108	Dual specificity phosphatase 1	Dusp1	0.41*	0.44
(U02553)	(Dual specificity phosphatase 1)	(Dusp1)	(0.44)**	(0.44)*
BF552826	Similar to RIKEN cDNA 2310057N15	RGD1562078_predicted	0.41*	0.43*
BF393046	EST	---	0.43*	0.47**
AW141081	Stanniocalcin 1	Stc1	0.43*	0.40**
BF400220	Transgelin 3	Tagln3	0.44*	0.44**
AI044898	Similar to Myb protein P42POP	RGD1565160_predicted	0.44**	0.50**
BI291457	EST	---	0.46	0.62
AW252251	EST	---	0.49*	0.42
AA900870	Talin 1	Tln1	0.51*	0.53
BG371725	Zinc finger and BTB domain containing 16	Zbtb16	0.52*	0.10

a: the value is fold-change when the expression level in the DEN-alone group was calculated as 1.

*, **: $p < 0.05$, 0.01 vs. DEN-alone (Student's *t*-test)

Table 6. Number of TGFβRI-positive foci and the co-expression ratio in the population of GST-P positive foci.

Group	Untreated control	DEN-alone	DEN+FB3600	DEN+PB500
No. of animals	8	8	8	8
Numbers (No./cm ²)	0	3.30±2.62 ^b	15.43±3.45 ^{**}	3.07±1.60
TGFβRI(+) foci/GST-P(+) foci (%) ^a	0%	51%	80%	42%

a: All of TGFβRI(+) foci co-expressed GST-P.

b; mean±SD, ** : p<0.01 vs. DEN-alone (Student's *t*-test)

畜水産食品中の残留動物用医薬品の安全性に関する研究

—動物用医薬品の発がん過程における酸化ストレスの関与—

分担研究者 梅村 隆志 国立医薬品食品衛生研究所 病理部 主任研究官

研究要旨

昆虫成長調整剤のジサイクラニル(DC)は従来の変異原性試験は陰性ながら、雌マウスの肝臓に発がん性を有することが知られている。今回、その発がん機序解明を目的に、DCを13週間、0.15%の濃度で雌雄の *gpt delta* マウスに混餌投与した。その結果、雌雄の投与群で肝 DNA 中の 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) レベルの有意な上昇が認められ、雌の投与群で肝細胞増殖活性並びに *gpt* 遺伝子突然変異頻度が有意に上昇した。その変異の主体は 8-OHdG 形成の結果生じると考えられる GC:TA トランスバージョン変異であった。また、*gpt delta* マウスと同系統の雌雄 B6C3F1 マウスに DC を同様に投与したところ、投与4週目で雌マウスの 8-OHdG レベルが有意に上昇した。今回の結果から、非遺伝毒性発がん物質に分類されている DC は標的臓器の雌マウス肝の酸化 DNA 損傷を投与早期より誘発し、同時に細胞増殖を亢進させ、その結果、酸化 DNA 損傷を起因とする点突然変異を上昇させている可能性が示された。

A. 研究目的

昆虫成長調整剤のジサイクラニル(DC)は動物用医薬品として使用されている。これまで、*in vitro*での復帰突然変異試験、染色体異常試験、不定期 DNA 合成試験、*in vivo*での小核試験、Comet assayの何れもが陰性ながら、その長期投与により雌マウス肝臓に発がん性を有しており、その発がん機序が注目されている。近年、発がん用量を投与したマウス肝におけるマイクロアレイ解析の結果、酸化ストレスに關与する遺伝子クラスターの発現誘導が報告された。さらに、イニシエーション処置後、肝部分切除し、DCを投与した肝臓での前腫瘍性マーカーの増加、脂質過酸化レベル並びに酸化 DNA 損傷の上昇が観察された。本研究目的は、DC単独投与による酸化ストレスマーカーの変動を検索し、DC肝発がん機序への酸化ストレス關与の可能性を探ることである。さらに近年開発された

レポーター遺伝子導入マウスを用いた、*in vivo*変異原性アッセイを実施することにより、従来、非変異原性発がん物質として分類されていた当該動物用医薬品の *in vivo*標的臓器中の変異原性を明らかにし、その安全性再評価における重要なデータを提供することにある。

B. 研究方法

実験1：従来から使用されていた *gpt delta* マウスはその背景系統が肝発がん嫌発系の C57/BL/6 であったことから、今回は肝発がん好発系の C3H/He 系統マウスとの交配より得られた B6C3F1 系統の *gpt delta* マウスを実験に供した。雌雄8週令のマウスそれぞれ各群5匹に、DCを0、0.15%の濃度に混じた飼料を13週間自由に摂取させた。また、全動物に対して、解剖2日前より1日1回、さらに解剖2時間前の計3回、BrdU(100 mg/kg)を腹腔内投与した。エーテル麻酔下で動

物を解剖し、肝重量測定後、一部をホルマリン固定し、常法に従いパラフィン切片を作成し、BrdU の免疫染色を施した。残りは、液体窒素により凍結保存した。肝臓の一部はホモジナイズ後、チオバルビツール酸を加えて、蛍光光度計によりチオバルビツール酸反応物質 (TBARS) を脂質過酸化レベルの指標として測定した。また肝から DNA を抽出し、HPLC-ECD 法により酸化的 DNA 損傷の指標である 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) レベルを測定した。さらに、抽出した DNA をスファージにパッケージング後、Cre 組み換え酵素発現大腸菌並びに P2 溶原大腸菌にそれぞれ感染させ、導入遺伝子の *gpt* 並びに *red/gam* 遺伝子の突然変異頻度を検索した。

実験 2: 雌雄 8 週令の B6C3F1 マウスに DC を実験 1 と同様に投与して、投与後の 2 及び 4 週目に動物を解剖し、肝臓の 8-OHdG レベルを測定した。

(倫理面への配慮)

動物実験については、国立医薬品食品衛生研究所実験動物取り扱い指針に基づいて実施された。

C. 研究結果

実験 1: 雄では DC 投与群で有意の体重減少が認められ、肝実重量並びに比重量も有意に減少した。一方、雌では体重に変化はなく、肝実重量及び比重量の有意の増加が観察された (Table 1)。肝臓中の TBARS レベルは雌雄ともに投与による影響は認められなかった (Fig. 1)。肝 DNA 中の 8-OHdG レベルは雌雄共に投与群で対照群に比して有意の上昇が観察された (Fig. 2)。BrdU 標識率 (BrdU-LI) を免疫染色標本上の肝細胞少なくとも 3000 個当たりの BrdU 陽性細胞数の割合として求めたところ、雄では群間に差は

認められなかったが、雌の投与群は対照群に比べて有意の高値を示した (Fig. 3)。*In vivo* mutation assay の結果、雄マウス肝臓の *gpt* 遺伝子突然変異頻度並びに雌雄マウス肝臓の *red/gam* 遺伝子突然変異 (Spi-) 頻度に投与による増加は認められなかったが (Tables 2, 3)、雌の投与群の *gpt* 遺伝子突然変異頻度が対照群に比べて約 5 倍上昇し、有意の増加となった (Table 2)。次に、*gpt* の変異スペクトラムを解析する目的で、変異コロニーより *gpt* 遺伝子 456 bp を含む 739 bp の DNA フラグメントを PCR にて増幅し、DNA のダイレクトシーケンスを実施した。その結果、全変異体中の 67.3 % (70/104) が G:C 対に変異を生じていた。塩基置換変異では、GC:TA (32.7 %、34/104)、GC:AT (25.0 %、26/104)、GC:CG (9.6 %、17/104) の順で高頻度に観察された。また、欠失変異が 16.3 % (17/104) 認められた (Table 4)。

実験 2: DC 投与 2 週間目の肝 8-OHdG レベルは雌雄ともに群間に差は認められなかったが、投与 4 週目の雌の投与群で有意な上昇が認められた (Fig. 4)。

D. 考察

DC はピリミジン骨格に 3 つのアミノ基と 1 つのシアノ基が付加した構造を有しており、生体内で電子供与体として働く可能性が考えられる。事実これまで、その投与によりマウス肝臓中の CYP1A1、thioredoxin reductase 1、superoxide dismutase 1 あるいは OGG1 などの酸化ストレス関連蛋白の mRNA レベルが上昇することが報告されている。また、発がん物質投与後、肝部分切除を施すと、肝 DNA 中の 8-OHdG レベルが上昇することも明らかとなっている。そこで今回、発がん用量の DC を単独で 13 週間投与し

たところ、雌雄のマウス肝 DNA 中の 8-OHdG が有意に上昇することが明らかとなった。一方、TBARS レベルは雌雄ともに変化は認められず、DC が引き起こす酸化ストレスは脂質の過酸化を伴わず、核近傍で活性酸素種が生じている可能性が示された。一方、本マウスに導入された *gpt* 遺伝子を λ EG10 ファージとして回収し、大腸菌に感染させ、変異 *gpt* 遺伝子が導入された大腸菌のみが 6-thioguanine (6-TG) 添加培地上で発育できる性質を利用して、DC による *gpt* 遺伝子突然変異誘発の有無を検討した。その結果、DC 投与雌マウス肝臓中の *gpt* 遺伝子の突然変異頻度が有意に上昇した。一方、雄の投与群では突然変異頻度の上昇は観察されなかった。また、 λ ファージに感染しても溶菌しない P2 溶原大腸菌に *gpt* 遺伝子導入に用いた λ EG10 を感染させ、 λ EG10 遺伝子上にある *red/gam* 両遺伝子に変異が生じると(すなわち欠失変異が生じると)、P2 溶原大腸菌においてもプラーク形成が認められること(Spi-)を利用して、DC 投与による *red/gam* 遺伝子の欠失変異誘発の有無を検討したところ、対照群との間に雌雄ともに差は認められず、比較的大きなサイズの欠失変異を誘発している可能性は低いと考えられた。*gpt* 遺伝子突然変異が雌にのみ認められ、雄に観察されなかった今回の *in vivo* 変異原性の結果は、発がん性試験結果における性差を反映しており、DC 発がん機序には *gpt* 遺伝子変異と同様の点突然変異が関与している可能性が示された。一方、得られた *gpt* 変異体での *gpt* 遺伝子のシークエンスを解析したところ、GC:TA トランスバージョン変異の頻度が最も高く、続いて GC:AT トランジションが認められた。8-OHdG はシトシンへの結合と同頻度にてアデニンと誤対合

し、その結果、二度の分裂を経て、GC:TA トランスバージョン変異を引き起こすことが知られている。一方、NIH3T3 細胞に *c-Ha-ras* gene をトランスフェクションした細胞系では *ras* のコドン 12(GGC) の最初の G に 8-OHdG を導入すると確かに GC:TA トランスバージョン変異のみが誘導されるが、二番目の G に導入すると GC:TA とともに GC:AT トランジション変異が誘導されることが知られている。従って、今回観察された DC 投与による *gpt* 遺伝子変異に DC が引き起こす酸化ストレスにより生じた 8-OHdG の形成がその引き金となっていることが考えられた。一方、8-OHdG の上昇は *gpt* 遺伝子突然変異の観察されなかった雄の投与群にも観察され、この酸化的 DNA 損傷と *in vivo* 変異原性との関連性については明らかとはならなかった。しかし、*gpt* delta と同系統の B6C3F1 マウスに同様に DC を投与したところ、雌マウスにおいてより早期に酸化的 DNA 損傷が生じることが明らかとなった。細胞核内 DNA 中に 8-OHdG が形成され、それを原因とした変異が固定されるには、ある一定期間、持続的に 8-OHdG が核内 DNA 中に蓄積していることが必要であると考えられている。従って、雌マウスで観察された投与初期からの 8-OHdG の蓄積が変異頻度の上昇に寄与した可能性が考えられる。一方、肝細胞増殖活性を BrdU-LI で検索したところ、雌マウスの肝細胞で有意の高値を示し、雄は対照群との間に差は認められなかった。この事は肝重量増加が雌マウスにおいてのみ観察された事実とも一致していた。8-OHdG に対して細胞分裂に共役した修復機構は存在しないと考えられており、8-OHdG を蓄積した肝細胞を肝部分切除による増殖亢進状態におくと、高頻度に変異が誘発されること

が報告されている。従って、DCは雌雄の肝DNAに酸化損傷を誘発したが、同時に雌の肝細胞に増殖活性の上昇を引き起こし、その結果、雌マウスの肝臓で酸化損傷のDNA損傷を起因とした点突然変異が高頻度に生じたものと推察された。以上、本研究によりDCの遺伝毒性を初めて明らかにすることが出来、また、酸化損傷ならびに細胞増殖誘導がDCの雌マウス肝発がん機序に深く関与している可能性が示された。レポーター遺伝子導入マウスを用いて、*in vivo*変異原性試験とともに発がんに寄与すると考えられる種々のパラメーターを検索する本実験方法は、これまで非遺伝毒性発がん物質に分類されていた物質の発がん機序解明に有用な手段であることが示され、当該動物用医薬品の安全性再評価に役立つものと考えられた。

E. 結論

DCを0.15%の濃度に混じた飼料を13週間、雌雄の*gpt delta*マウスに与えたところ、雌雄マウスの肝DNA中の8-OHdGレベルが上昇し、雌マウス肝細胞の増殖活性が上昇した。また、雌マウスの*gpt*遺伝子突然変異頻度が有意に上昇し、その変異はGC:TAトランスバージョン変異を主体とするものであった。さらに、雌マウスではDC投与初期より8-OHdGレベルが上昇することが明らかとなった。DC投与により生じる酸化ストレスの結果、8-OHdGが持続的に蓄積され、同時に細胞増殖亢進が誘導されることから高頻度に点突然変異が生じ、その事が、DCの雌マウス肝発がん過程に重要な役割を演じている可能性が示された。

F. 健康危機情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

Kuroiwa, Y., Umemura, T., Nishikawa, A., Kanki, K., Ishii, Y., Kodama, Y., Masumura, K., Nohmi, T., and Hirose, M.: Lack of *in vivo* mutagenicity and oxidative DNA damage by flumequine in the livers of *gpt delta* mice. Arch. Toxicol. 81:63-69. 2007.

Umemura, T., Kanki, K., Kuroiwa, Y., Ishii, Y., Nohmi, T., Nishikawa, A., and Hirose, M.: In vivo mutagenicity and initiation following oxidative DNA lesion in the kidneys of rats given potassium bromate. Cancer Sci. 97:829-835. 2006.

2. 学会発表

梅村隆志、黒岩有一、神吉けい太、児玉幸夫、増村健一、能美健彦、西川秋佳、広瀬雅雄：Dicyclanil投与による*gpt delta*マウス肝の酸化損傷及び*in vivo*変異原性、第33回日本トキシコロジー学会、2006年7月、名古屋

梅村隆志、黒岩有一、田崎雅子、児玉幸夫、能美健彦、西川秋佳、広瀬雅雄：マウス肝発癌剤dicyclanilが誘発する*gpt delta*マウス肝の酸化損傷及び*in vivo*変異原性、第65回日本癌学会、2006年9月、横浜

岡村俊也、梅村隆志、黒岩有一、田崎雅子、児玉幸夫、能美健彦、西川秋佳、広瀬雅雄：マウス肝発がん剤dicyclanilによる*in vivo*変異原性誘発への酸化損傷及び修復酵素の関与について、第23回日本毒性病理学会、2007年1月、東京

Umemura, T., Kuroiwa, Y., Tasaki, M., Okamura, T., Kodama, Y., Nohmi, T., Nishikawa, A. and Hirose, M.: Oxidative DNA damage and *in vivo* mutagenicity in the livers of *gpt* delta mice given dicyclanil. Society of Toxicology, 46th Annual Meeting, Charlotte, March, 2007.

H. 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

Table 1. Body, liver and relative liver weights of *gpt* delta mice given DC

Sex	Treatment	BW (g)	Liver (g)	Liver/BW (%)
Male	Cont	32.6 ± 1.6	1.66 ± 0.21	5.07 ± 0.54
	Dicyclanil	29.0 ± 1.1 **	1.42 ± 0.08 *	4.89 ± 0.21*
Female	Cont	25.0 ± 0.6	1.06 ± 0.05	4.25 ± 0.16
	Dicyclanil	24.0 ± 0.8	1.27 ± 0.07**	5.29 ± 0.12**

*, **: p<0.05, 0.01 vs. Cont

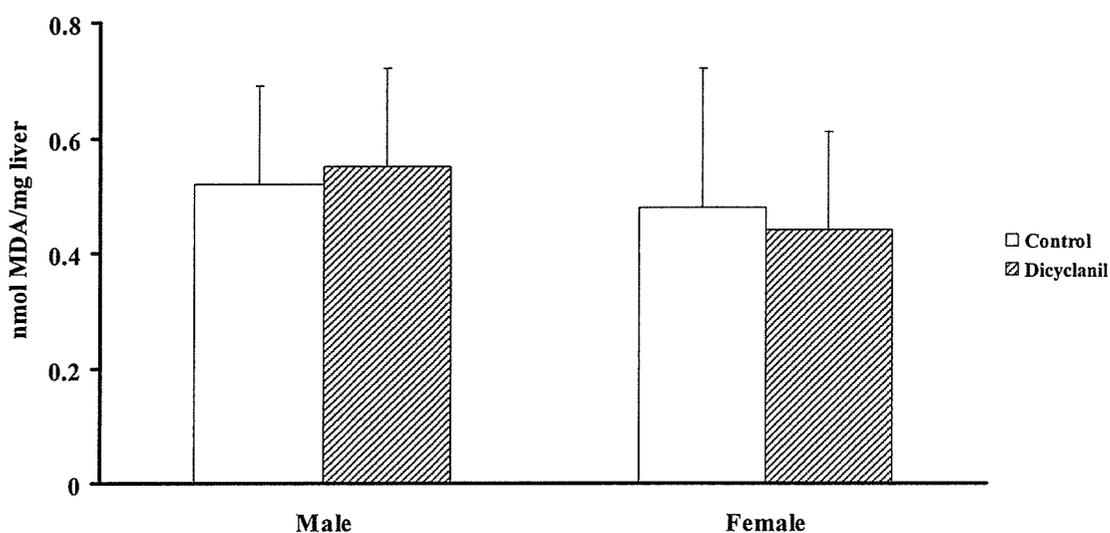


Figure 1. TBARS levels in the livers of *gpt* delta mice given DC

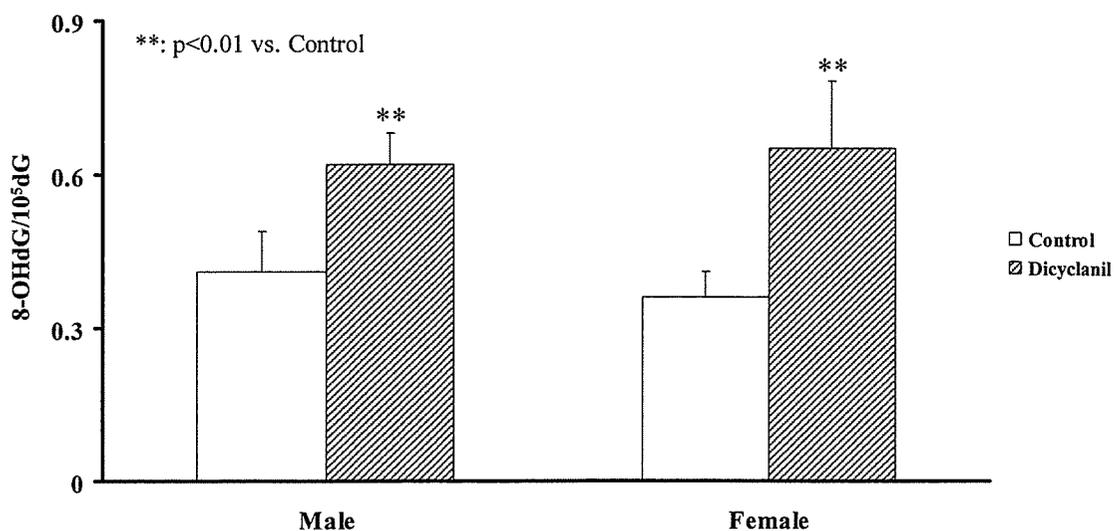


Figure 2. 8-OHdG levels in the livers of *gpt* delta mice given DC

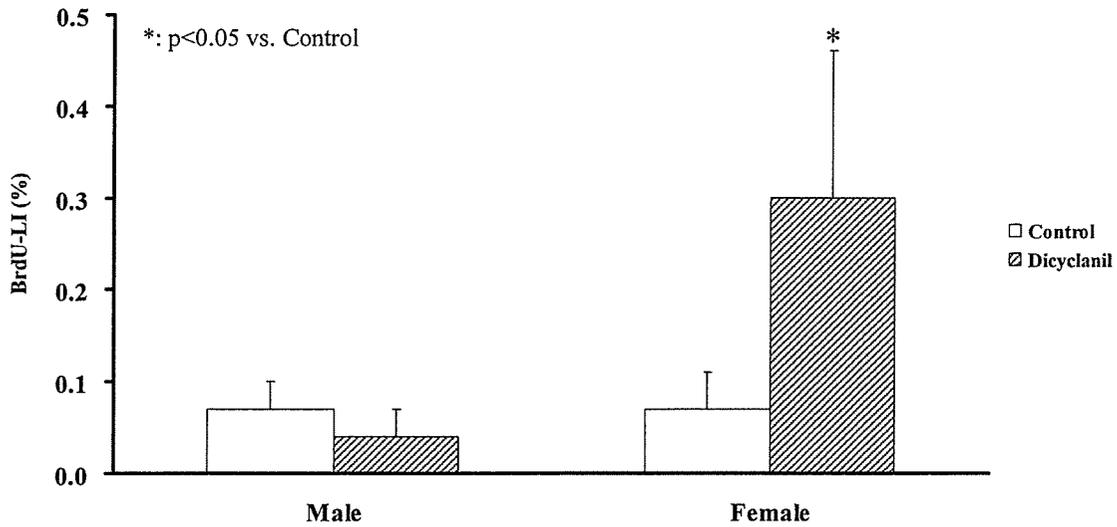


Figure 3. BrdU-LIs in hepatocytes of *gpt* delta mice given DC

Table 2. *gpt* MFs in the livers of *gpt* delta mice given DC

Sex	Treatment	Animal No.	Cm ^R colonies (x 10 ⁵)	6-TG ^R and Cm ^R colonies		Mutant frequency	Mean ± SD
				Total	Independent		
Male	Control	1	9.0	6	5	0.56	0.42 ± 0.20
		2	10.7	7	7	0.66	
		3	6.9	4	3	0.44	
		4	9.5	4	3	0.31	
		5	12.4	2	2	0.16	
	Dicyclanil	6	11.5	6	5	0.43	0.48 ± 0.31
		7	10.7	1	1	0.09	
		8	8.9	8	8	0.90	
		9	6.1	4	4	0.66	
		10	9.7	3	3	0.31	
Female	Control	11	8.8	4	4	0.45	0.48 ± 0.29
		12	6.5	5	2	0.31	
		13	12.6	2	2	0.16	
		14	7.6	7	7	0.93	
		15	8.7	5	5	0.57	
	Dicyclanil	16	7.0	31	19	2.72	2.23 ± 0.55 **
		17	13.0	29	26	2.01	
		18	11.1	51	25	2.26	
		19	7.0	11	10	1.42	
		20	8.7	34	24	2.75	

** : p < 0.01 vs. Control

Table 3. Spi- MFs in the livers of *gpt* delta mice given DC

Sex	Treatment	Animal No.	Plaques within XL-1 Blue MRA (x 10 ⁵)	Plaques within XL-1 Blue MRA (P2) (Spi)	Mutant frequency	Mean ± SD
Male	Control	1	10.4	4	0.39	0.27 ± 0.17
		2	13.3	2	0.15	
		3	19.4	3	0.16	
		4	14.2	2	0.14	
		5	11.7	6	0.51	
	Dicyclanil	6	20.4	10	0.49	0.42 ± 0.12
		7	17.1	4	0.23	
		8	10.1	4	0.40	
		9	12.5	7	0.56	
		10	11.6	5	0.43	
Female	Control	11	16.7	15	0.90	0.68 ± 0.29
		12	10.9	10	0.92	
		13	33.9	10	0.29	
		14	ND	ND	ND	
		15	19.4	12	0.62	
	Dicyclanil	16	18.9	14	0.74	0.83 ± 0.35
		17	22.6	29	1.28	
		18	17.4	7	0.40	
		19	15.4	10	0.65	
		20	16.0	17	1.06	

ND: not detected

Table 4. Mutation spectra of *gpt* mutant colonies

	Male				Female				
	Control		Dicyclanil		Control		Dicyclanil		
	Number (%)	MF (x10 ⁻⁶)							
Base substitution									
Transversions									
GC:TA	1 (5.0)	0.02	1 (4.8)	0.02	1 (5.0)	0.02	34 (32.7)	0.73	
GC:CG	3 (15.0)	0.06	3 (14.3)	0.07	1 (5.0)	0.02	10 (9.6)	0.21	
AT:TA	1 (5.0)	0.02	3 (14.3)	0.07	1 (5.0)	0.02	10 (9.6)	0.21	
AT:CG	0	0	0	0	2 (10.0)	0.05	2 (1.9)	0.04	
Transitions									
GC:AT	6 (30.0)	0.13	11 (52.4)	0.25	5 (25.0)	0.12	26 (25.0)	0.56	
AT:GC	3 (15.0)	0.06	1 (4.8)	0.02	3 (15.0)	0.07	0	0	
Deletion									
single bp	5 (25.0)	0.11	2 (9.5)	0.05	6 (30.0)	0.14	15 (14.4)	0.32	
over 2 bp	0	0	0	0	0	0	2 (1.9)	0.04	
Insertion	1 (5.0)	0.02	0	0	1 (5.0)	0.02	1 (1.0)	0.02	
Complex	0	0	0	0	0	0	4 (3.8)	0.08	
Total	20	0.42 ± 0.20	21	0.48 ± 0.31	20	0.48 ± 0.29	104	2.23 ± 0.55	

*The number of colonies with independent mutations

(): % of total colonies

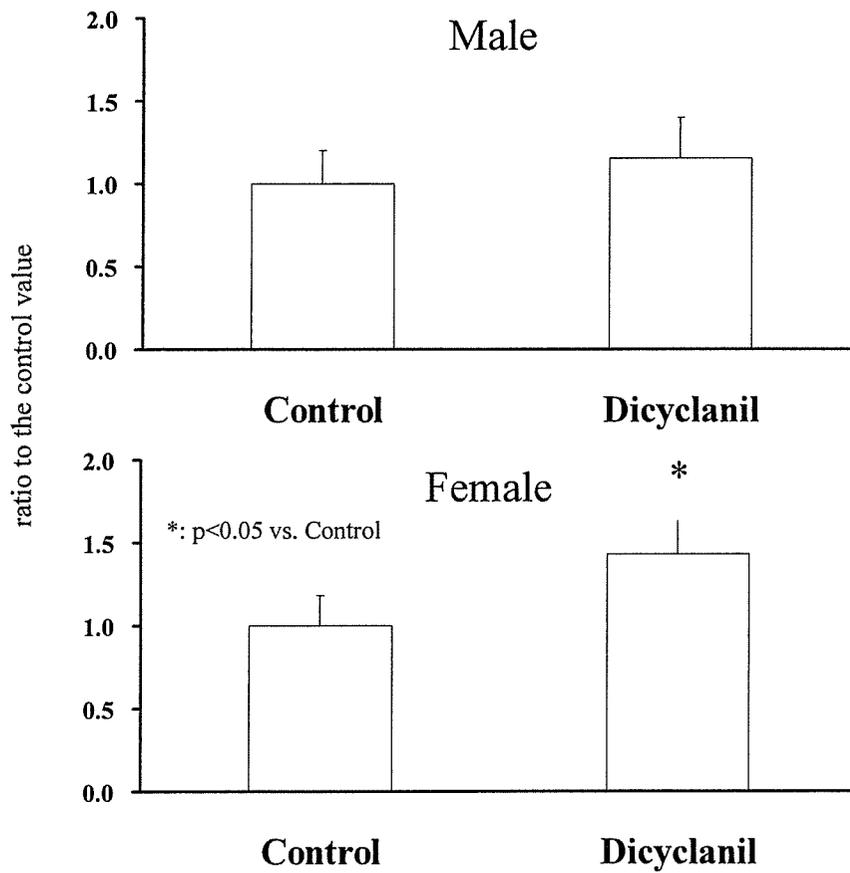


Figure 4. 8-OHdG levels in the livers of mice given DC for 4 weeks