

2008370076

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

食品添加物等における遺伝毒性評価のための
戦略構築に関する研究

平成18～20年度 総合研究報告書

主任研究者 能美 健彦

平成21(2009)年3月

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

食品添加物等における遺伝毒性評価のための
戦略構築に関する研究

平成18～20年度 総合研究報告書

主任研究者 能美 健彦

平成21(2009)年3月

目 次

I. 研究報告	
食品添加物等における遺伝毒性評価のための 戦略構築に関する研究 能美健彦	----- 1
II. 研究成果の刊行に関する一覧表	----- 68
III. 研究成果の刊行物・別刷	----- 76

研究課題名:食品添加物等における遺伝毒性評価のための戦略構築に関する研究

主任研究者: 能美健彦 国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部 部長

研究要旨

酸化損傷 DNA 修復系(*mutM*, *nth/nei*)を欠損させた遺伝毒性試験用のバクテリア株を作製し、食品添加物である臭素酸カリウム等に対する感受性を野生型株と比較した。修復欠損株は野性型株よりも高い変異感受性を示し、酸化 DNA 損傷に基づく塩基置換変異に対し、DNA 修復が実際的な閾値を形成することを示した(山田)。ヒト細胞のゲノム中に一カ所だけ制限酵素 I-*SceI* の切断部位を持つトランスジェニック細胞を作製し、二重鎖 DNA 切断(DSB)の多くが非相同組換えにより修復されることを示した。臭素酸カリウム、AF-2 は、ヒト細胞に欠失変異を誘発した。DSB に基づく欠失変異は、その修復が誤りがちであるため、臭素酸カリウム、AF-2 の遺伝毒性には閾値が設定できないことを示唆した(本間)。遺伝毒性発がん物質の評価に関する欧州アカデミーの提言を紹介し、発がん物質の性質により閾値を設定できる場合とできない場合があることを報告した。また同一の発がん物質であっても臓器により発がんの機構が異なり、閾値の有無が臓器により異なることを明らかにした(長尾)。バクテリアの修復欠損株と野生型株を用い、低用量の遺伝毒性物質が複数存在すると相加効果を現すことを示した(太田)。LC/MS/MS を用いて、過酸化脂質由来の 12 種類の DNA 付加体の同時定量法、および、アクリルアミド DNA 付加体の測定法を開発した(松田)。*gpt delta* ラットに臭素酸カリウムを投与し、発がんの標的臓器である腎臓で点突然変異と欠失変異頻度が上昇していたが、肝臓ではいずれの変異も起きていないことを明らかにした。また F-344 *gpt delta* トランスジェニックラットを用い、発がんの標的臓器で遺伝毒性を検出できることを明らかにした(能美)。遺伝毒性発がん物質の閾値は、誘発される変異のタイプや臓器により異なり、遺伝毒性発がん物質であるか否かの判定には、発がんの標的臓器において遺伝毒性を検出・解析することが重要であることを明らかにした。

キーワード: 遺伝毒性発がん物質、閾値、DNA 修復、酸化 DNA 損傷、二重鎖 DNA 切断、相加効果、DNA 付加体、発がん標的臓器、トランスジェニックラット

分担研究者

山田雅巳	国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部 室長
本間正充	国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部 室長

長尾美奈子	慶応義塾大学 薬学部 客員教授
太田敏博	東京薬科大学 生命科学部 教授
松田知成	京都大学 地球環境学堂 准教授

A. 研究目的

食品添加物など食品中に含まれる化学物質の安全性に対する国民の関心は高く、これに答える研究は行政的に重要な課題と考える。分析化学技術の進化に伴い、微量の化学物質の定量が可能となって来たが、一方で、微量物質の安全性評価の困難さが、行政判断を行う際の隘路となっている。一般に、安全性試験は、最大耐量を基に用量が設定され、低用量域での毒性試験の結果に基づき、無毒性用量 (NOAEL, no observed adverse effect level) が設定され、これ以下の用量においては毒性は発現しないものとされる。

しかし遺伝毒性物質については、どのように低用量であっても DNA に不可逆的な変異を誘発すると考えられ、遺伝毒性を示す発がん物質については NOAEL は設定されず、食品添加物等については一日許容摂取量 (ADI, administered daily intake) も設定されない。これは、遺伝毒性物質は、例え1分子であっても DNA と反応して不可逆的な変化 (突然変異) を起こし、がんを誘発する可能性があるとする原理的な思考に基づいている。環境汚染物質のように曝露が不可避である遺伝毒性発がん物質の場合には、閾値がないことを前提に、数理モデルを用い、生涯の発がんリスクを推定している。しかし、こうした手法を食品添加物等に適用できるかについては明らかではなく、さらなる検討が求められている。

ヒトを含む生物には、種々の生体防御機構が存在しており、これらが遺伝毒性発がん物質に作用して、その作用を抑制し事実上の閾値を形成する可能性が考えられる。発がん物質や活性酸素種の多くは、グルタチオンを初めとする生体防御物質、抗酸化物質によって不活化される。グルタチオンやグルクロン酸との抱合を触媒するグルタチオン抱合酵素やグルクロン酸抱合酵素は主要な解毒酵素として知られている。さらに DNA が損傷を受けても、これを修復する DNA 修復系の存在や、損傷

部位を乗り越えて複製を続けるトランスリージョン DNA 合成、また DNA 損傷を受けた細胞を死に至らしめて個体としての恒常性を保つアポトーシスも、遺伝毒性発がん物質の低用量域での作用を無毒化し、実際的な閾値を形成している可能性が考えられる (図 1)。

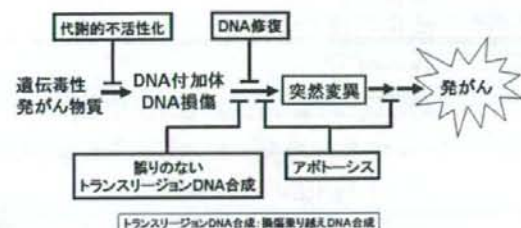


図 1 遺伝毒性発がん物質の「事実上の閾値」形成に貢献すると考えられる諸因子

本研究では、バクテリア、ヒト細胞、トランスジェニックラット、機器分析等の手法により、遺伝毒性発がん物質の閾値形成に寄与する要因を明らかにすることを目的としている。研究班は(1)閾値形成の有無に関するメカニズム研究 (山田、本間) (2) 遺伝毒性発がん物質の閾値に関する国際的動向の分析 (長尾) (3) 微量の遺伝毒性物質の複合影響 (太田) (4) DNA 付加体の分析法の確立 (松田) (5) 発がんの標的臓器で遺伝毒性を分析するトランスジェニック遺伝毒性試験の有用性の検証 (能美) から構成されている。

研究の結果、遺伝毒性発がん物質の閾値は、誘発される変異のタイプや臓器により異なること、遺伝毒性物質であるか否かの判定には、発がんの標的臓器において遺伝毒性を検出・解析することが重要であることが明らかになった。また平成 20 年 7 月には東京において、「遺伝毒性発がん物質の閾値に関する国際シンポジウム」(招待講演者 21 名、参加者約 200 名)を開催し、その成果を日本環境変異原学会の機関誌 Genes and Environment の特集号として発表した。

B. 研究方法

1) バクテリアを用いた遺伝毒性閾値の研究

細菌を用いる復帰突然変異試験(Ames試験)に用いられる *Salmonella typhimurium* TA1535 株の 8-ヒドロキシグアニン(8-OH-G)DNA グリコシラーゼを欠損させた株(YG3001)とエンドヌクレアーゼⅢとエンドヌクレアーゼⅦを欠損させた株(YG3206)を用いて、臭素酸カリウム、L-ペニシラミン、L-システインの遺伝毒性を検索した(山田)。

2) 哺乳類細胞を用いた遺伝毒性閾値の研究

ヒトリンパ芽球細胞 TK6(*TK*⁺)の *TK*⁺アリのエクソン 5 の約 100bp 上流に、制限酵素 *I-SceI* の切断部位を導入し TSCE5 細胞とした。TSCE5 細胞の *TK*⁺遺伝子のエクソン 5 に点突然変異を持つコンパウンドヘテロ型(*TK*⁺)細胞を樹立し TSCER2 とした。両細胞に *I-SceI* 発現ベクターを導入した。TSCE5 細胞では *I-SceI* により DSB が生ずると、非同源性末端再結合(NHEJ)により欠失が生じ、細胞は TK 欠失変異体となり TFT 耐性細胞として検出される。一方、TSCER2 においては、相同染色体間で組換えが起こると、野性型 TK 遺伝子が復活し、復帰細胞は HAT 耐性となる。2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide (AF-2)、臭素酸カリウムの遺伝子突然変異試験は、TK6 細胞を 72 時間処理し、TFT 耐性となった細胞の頻度を求めた。変異細胞は増殖性の早い NG 細胞と、増殖の遅い SG 細胞に分類した。また変異体を PCR 法等により分子解析した(本間)。

3) 遺伝毒性閾値に関する国際動向の分析

文献検索およびデータ解析によりアセチルアミノフルオレン(AAF)、2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine (PhIP)、2-amino-3,8-dimethylimidazo-[4,5-*f*]quinoxaline (MeIQx)の発がん性に関する用量効果曲

線を検討した(長尾)。

4) 低用量域での変異原性の複合作用

Salmonella typhimurium TA100 株とその *uvr*⁺株(TA1975P)を用いて、AF-2、3-chloro-4-(dichloro-methyl)-5-hydroxy-2(5-*H*)-furanone (MX)、4-nitro-quinoline *N*-oxide (4-NQO)、sodium azide (Azide)、*N*-(trichloromethylthio)-4-cyclohexane-1,2-dicarboximide (Captan)、1-nitropyrene (NP)を単独あるいは 6 化合物を共存させて遺伝毒性を検索した(太田)。

5) 食品中化学物質が引き起こす DNA 付加体定量法の開発

食品中脂質の過酸化により生じる各種アルデヒド類、acrolein、crotonaldehyde、4-oxo-2-hexenal、4-oxo-2-nonanal、また、アスパラギン酸と還元糖のメイラード反応により生成するアクリルアミドの引き起こす DNA 付加体の標準品(*N*7-(2-carbamoyl-2-hydroxy-ethyl)-guanine (*N*7-GA-Gua))とその安定同位体を合成し、LC/MS/MS による測定 of 最適条件を検討した(松田)。

6) 動物個体を用いた遺伝毒性研究

SD *gpt delta* ラットの雄を F-344 ラットの雌と 15 世代戻し交配を行い、F-344 *gpt delta* ラットを樹立した。5 週齢の SD *gpt delta* ラットに、500ppm の臭素酸カリウムを飲水にて 12 週間投与し、発がん標的臓器(腎臓)と非標的臓器(肝臓)の *gpt* および Spi 変異頻度(MF)を求めた。*gpt delta* マウス由来の胎児繊維芽細胞(MEF)を調製し、アスベスト(クリソタイル)に曝露させ、Spi MF を測定した。7 週齢の雄 F344 *gpt delta* ラットに 2,4-diaminotoluene (2,4-DAT, 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm)を、13 週間混餌投与した。500 ppm 投与群は、毒性影響のため 9 週以降は 400 ppm に用量を下げた。2,6-DAT は、500 ppm の用量で 13 週間混

餌にて投与した。標的臓器(肝臓)と非標的臓器(腎臓)の *gpt* MF を測定した(能美)。

(倫理面への配慮)

本研究は、バクテリア、培養細胞、実験動物を用いたものであり、ヒトに関する倫理上の問題はない。また、全ての実験は、遺伝子組換え実験、動物実験に関する各研究所内の規定に準拠して行った。

C. 研究結果

1) バクテリアを用いた遺伝毒性閾値の研究

臭素酸カリウムは、Ames 試験の標準株である TA1535 株に対しては変異原性を示さなかったが、8-OH-G DNA グリコシラーゼを欠損した YG3001 株に対して変異原性を示した。

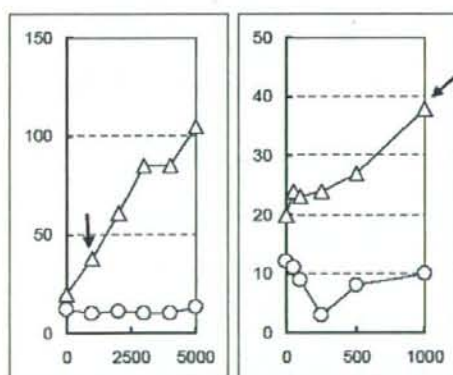


図2 臭素酸カリウムの変異原性

横軸、用量(µg/plate)、縦軸、ヒスチジン非要求性復帰変異株数(コロニー数/plate)。○: TA1535、△: YG3001。矢印は同じ用量の値を示す。

L-システインは、5000 µg/plate まで用量をあげても TA1535 株に変異原性を示さなかったが、エンドヌクレアーゼ III と VIII を欠損させた YG3206 株では 1-10 µg/plate の範囲で用量依存的に復帰株数の増加が見られた(図3)。L-ペニシラミンは TA1535 株に対して 1000 µg/plate まで用量をあげても変異原性を示さな

かったが、YG3206 株に対しては 250 µg/plate から用量依存的に復帰株数の増加を増大させた(山田)。

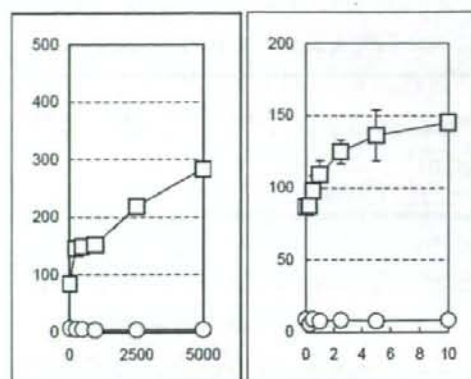


図3 L-システインの変異原性

横軸、濃度(µg/plate)、縦軸、ヒスチジン非要求性復帰変異株数(コロニー数/plate)。○: TA1535、□: YG3206。

2) 哺乳類細胞を用いた遺伝毒性閾値の研究

I-SceI 発現ベクター導入による TSCE5 の突然変異頻度は約 1%、TSCER2 は約 0.01% であった。このことから、DSB の 99% は非相同組換え末端再結合(NHEJ)によって修復されることが示唆された。I-SceI によって TSCE5 に誘発される欠失は 10bp 以下がほとんどで、結合領域に 1~4bp のマイクロホモロジーを含んでいた。これらの結果は、DSB 修復はマイクロホモロジーを介した NHEJ のメカニズムが主であることを示している。

TK6 細胞を臭素酸カリウムで処理し、細胞毒性、遺伝毒性を評価した。コメット試験では中性コメットでも陽性反応が得られたこと、TK 遺伝子突然変異では SG 変異体が多く観察されたことから、臭素酸カリウムの主たる DNA の損傷は DSB によるものであることが示唆された。臭素酸カリウムによって誘発された TK 変異体 39 クローン(NG:8、SG:31)の 90% で TK 遺伝子の消失(LOH)が観察された。これは、放射線誘発変異体(88%)に匹敵する。臭素酸カリウムによる LOH は、大きな欠失に因っており、その

サイズは1Mbから40Mbに及び、最も多いタイプは17番染色体長腕末端から1/4までの約30Mbの末端型欠失であった。

TK6細胞をAF-2で処理し、細胞毒性を評価した。最高用量の20 μ g/mlまでではコメントの明らかな増加は観察されなかったが、低用量から小核の誘発が観察された。遺伝子突然変異においては低用量から用量依存的に突然変異の誘発が観察され、20 μ g/mlの最高用量で無処理の10倍の突然変異の誘発が観察された。AF-2処理によって得られたTK変異体88クローン(NG:24、SG:64)のうち、33クローンは点突然変異と考えられるNon-LOHタイプであり、残りの55クローンはLOHタイプの突然変異体であった。LOHタイプの変異体のうち、31クローンが欠失に基づくヘミタイプ、24クローンが相同組換えによるホモタイプであった(本間)。

3) 遺伝毒性閾値に関する国際動向の分析

欧州アカデミーでは、発がん物質を、遺伝毒性閾値の発現の様式から4群に分類することを試みている(表1)。

表1 欧州アカデミーによる遺伝毒性発がん物質の閾値発現機構に基づく分類

A. 閾値なし (Linear non-threshold, LNT)	B. 不明 (LNTとして取り扱う)	C. 実用的閾値あり (Practical/apparent threshold)	D. 閾値あり (Perfect/real statistical threshold)
イオン化放射線	アクリルアミド	ホルムアルデヒド	TCDD
塩化ビニール	鉛	酢酸ビニール	抗腫瘍剤
4-アミノビフェニール	アクリロニトリル	ROS	トキシノムラセ菌毒素
ジメチルニトロソアミン			ホルモン
アフラトキシンB1			

出典: Bolt et al., Toxicol. Lett. 151, 29-41 (2004) より。

米国で行われた25,000匹あまりのBalb/cマウスを用いたAAFの発がんに関する文献(J. Environ. Pathol. Toxicol., 3, 1-7, 1980; 3, 55-68, 1980; 3, 179-183, 1980)を調査し、AAFの発がんに関する閾値は、肝臓では認められないが、腎臓では存在が示唆されることを明らかにした。また、PhIPの発がん性に関する自身のデータを吟味し、乳腺、造血系(リンパ性白血病)では閾値は認められないが、大腸

腫瘍では閾値の存在が示唆されることを報告した(長尾)。

4) 低用量域での変異原性の複合作用

TA1975P株において見かけ上、変異原性が検出されない用量(μ g/plate)としてAF-2, 0.02; MX, 0.05; 4-NQO, 0.2; Azide, 0.2; NP, 0.5; Captan, 1を設定した。uvr機能を欠いたTA100株では、上記の用量において著しい復帰変異コロニー数の増加が見られた。設定した用量の各変異原を混合しTA1975P株で変異原性を検索した。変異原単独処理では変異原性は検出されなかったが、6種類を混合した場合、対照に較べ統計学的有意差をもって変異原性が検出された(太田)。

5) アクリルアミド誘発DNA付加体定量法の開発

過酸化脂質由来の12種類のDNA付加体の同時定量系を確立した。測定対象付加体は、8-oxo-dG、1,*N*⁶-etheno-dA、crotonaldehyde-dG付加体(CdG)、acrolein-dG付加体(8-OH-PdG、6-OH-PdG)、4-oxo-2-hexenal付加体(4-OHE-dG、4-OHE-dA、4-OHE-dC、4-OHE-medC)、4-oxo-2-nonenal付加体(Heptanone-1、*N*⁶-etheno-dG、heptanone-1、*N*⁶-etheno-dA、heptanone-3、*N*⁶-etheno-dC)である。また、脱塩基を引き起こすアクリルアミドDNA付加体、*N*7-(2-carbamoyl-2-hydroxyethyl)-guanine(*N*7-GA-Gua)の測定法について検討し、従来法よりも感度と信頼性の高い方法を確立した。また、本研究で確立したアクリルアミド付加体の定量法を用い、国立医薬品食品衛生研究所の本間班員の研究室でアクリルアミドを経口投与した11週齢のラットの各臓器における*N*7-GA-Guaを測定した(図4)。この手法は、今後、食品中アクリルアミドの毒性発現メカニズムの解明に寄与すると考えられる(松田)。

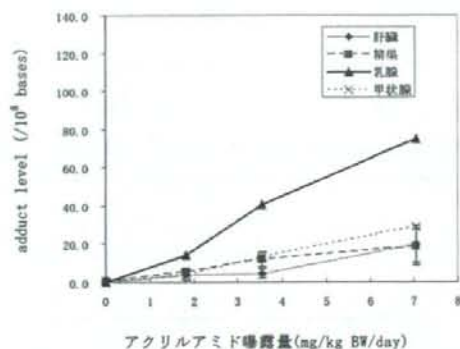


図4 アクリルアミドを経口投与したラットの各臓器中 *N*-GA-Gua レベル

6) 動物個体を用いた遺伝毒性研究

臭素酸カリウムの発がん標的臓器である腎臓の *gpt* MF は、投与により2倍以上増加した。G:C→A:T 変異が6倍増加していた。G:C→T:A 変異は、増加していなかった。腎臓における *Sp*i MF は、投与により約4倍増加した。投与により1塩基欠失が4~8倍、2塩基以上の大きさの欠失は10倍以上増加した。1塩基欠失の2/3は、アデニンあるいはチミンが2から6塩基連続して並ぶ配列からの欠失であった。2塩基以上の欠失変異体の半分は1 kb 以上の大きな欠失であった(図5)。大きな欠失変異体は、末端に短い相同配列を持つものと、持たないものが含まれていた。肝臓(非標的臓器)においては *gpt* MF、*Sp*i MF ともに増加は認められなかった。

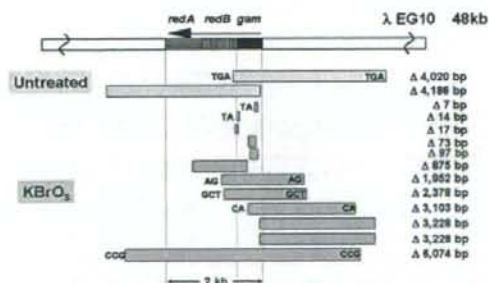


図5 臭素酸カリウム処理により誘発された *gpt* delta ラット腎臓の欠失変異

MEF 細胞をクリソタイルで処理すると $0.5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ と $1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ では用量依存的に MF が増大し、 $1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ では無処理群に比べて MF が 2.4 倍上昇した(図6)。

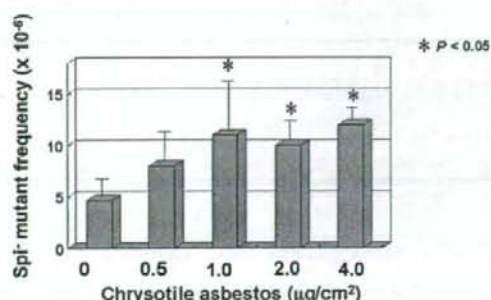


図6 クリソタイル処理による *Sp*i MF の増大

無処理群およびクリソタイル $1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 処理群から 93 個および 74 個の *Sp*i 変異体を探出し、その変異スペクトルを解析した。その結果、クリソタイル処理により 2 kb 以上の欠失変異体頻度が 5 倍以上増大しており、クリソタイルが誘発する欠失は、主に 2 kb 以上の欠失であることが示唆された。カタラーゼをクリソタイル処理する際に共存させると、その *Sp*i MF は無処理群のレベルまで低下したことから、クリソタイル処理による欠失変異の誘発に酸化ラジカルが関与していると考えられる。

肝臓の *gpt* MF は、2,4-DAT 投与群においては非投与群に比較して有意に増加し、125ppm 投与群において非投与群の約 2 倍、250ppm および 500ppm 投与群で約 7 倍高い MF を示した。一方、2,6-DAT は、500ppm 投与群において、非投与群に比べ低い値を示した。一方、腎臓においては、2,4-DAT、2,6-DAT ともに、非投与群よりも有意に高い *gpt* MF を示さなかった(能美)。

D. 考 察

高用量域において遺伝毒性と発がん性を示す物質は、遺伝毒性発がん物質と分類され、どのように微量であってもヒトに対して発がんリスクを負わせるものと考えられている。だが、生体には各種の防御機構(DNA修復、解毒代謝、アポトーシスなど、図1)が存在し、微量の遺伝毒性物質を無毒化して「事実上の閾値」を形成する可能性が考えられる。本研究班では、DNA修復能等に遺伝的修飾を加えた遺伝毒性試験用のバクテリア株、ヒト細胞株を用いてメカニズムの面から遺伝毒性の閾値について検討を加えた。また国際シンポジウムの開催を通して研究成果を発表すると共に、国外における閾値研究の成果を紹介した。さらに新規なトランスジェニック遺伝毒性試験の評価を通じて、発がんの標的臓器において遺伝毒性を検出することの重要性を明らかにした。

研究を開始するにあたり、閾値の有無を議論する際には、用量効果曲線を normal scale で表すことの重要性が指摘された(図7A、B)。片対数表示のグラフを用いると閾値を示す場合(図7C)と閾値を示さない場合(図7D)も区別がつけがたい(長尾)。

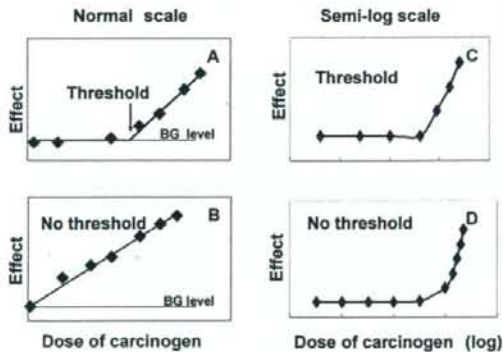


図7 線形による閾値有無の判定

酸化的DNA損傷に対する修復能(8-OH-G DNA グリコシラーゼ、Endo III/VIII)を欠損したサルモネラ株(YG3001、YG3206)は、臭素酸カリウムあるいはL-システイン等の突然変異に

対して高い感受性を示したが、野性型株(TA1535)では突然変異の誘発は観察されず、野性型株においては、8-OH-G および酸化ピリミジン損傷が効率よく修復され、これらの損傷に基づく変異誘発が抑制されることを示した。今回用いた試験菌株は、いずれも塩基置換を検出する菌株であり、今回の結果は、酸化DNA損傷に基づく塩基置換変異の誘発に対しては、DNA修復系が事実上の閾値形成に貢献する可能性を示唆している(山田)。

一方、放射線などによって引き起こされるDNAのDSBは、哺乳類細胞ではNHEJによって主に修復される。この修復経路は欠失等の突然変異をもたらすエラー発生型の修復経路である。食品添加物臭素酸カリウムおよびかつて使用されていたAF-2について、ヒト培養細胞TK6を用いてTK遺伝子突然変異試験を実施した。その結果、臭素酸カリウム、AF-2ともに遺伝毒性メカニズムとしてDSBの誘発が示唆された。DSBの修復はエラー発生型であり、高頻度で突然変異を引き起こすため、僅かな損傷でも閾値は設定できないと考えられる。今回の結果は、突然変異のタイプ(塩基置換変異かDSBか)により、閾値の有無が異なる可能性を示唆している(本間)。

化学発がんの特徴は、臓器特異性であり、ある臓器(発がん標的臓器)に対しては発がん性を示すが、他の臓器(発がん非標的臓器)に対しては発がん性を示さない。また、同一の発がん物質による発がん標的臓器であっても、発がんのメカニズムの違いが考えられる。遺伝毒性発がん物質であるAAFに関し、肝臓に対しては直線閾値無しの発がんモードを示すが、腎臓については閾値を示唆する非直線的な用量相関を示すことが文献調査および国際シンポジウムの開催を介して明らかにした。またヘテロサイクリックアミンであるPhIPに関しても、乳腺腫瘍やリンパ性白血病誘発に関しては直線的な用量効果曲線を示すが、大腸に関しては閾値の存在が示唆された。遺伝毒性発がん

物質については、安全サイドに立って「直線閾値なし」とすることは、当面、妥当と考えられ、低濃度の発がん物質の取り扱いには virtually safe dose (VSD) または threshold of toxicological concern (TTC) という考えを導入することが实际的であろう。しかし、環境中には遺伝毒性発現において閾値を示すものが存在するようである(表2)。用量相関を良く検討し、有用な物質の有効利用を図ることが重要である(長尾)。

表2 発がん物質閾値のまとめ

発がん物質	動物		閾値
	種	臓器	
AAF	マウス	腎臓	+
		肝臓	-
PhIP	ラット	乳腺	-
		全身性 (リンパ性白血病)	-
		大腸	+?
		肝臓*	+?
MeIQx	ラット	肝臓*	+?

閾値の有無は用量相関の線形より求めた

(Nagao et al., Genes and Environ., 30, 160-165, 2008)。

+: 閾値の存在が示唆された。

-: 閾値は存在しない。

+?: 閾値存在の可能性が示された。

*: 前がん病変

上記の VSD や TTC などは、いずれも遺伝毒性発がん物質には閾値がないことを前提としている。したがって、複数の遺伝毒性発がん物質が共存した場合には、低用量の遺伝毒性発がん物質が相加効果、相乗作用を示す可能性が考えられる。バクテリアを用いた試験により遺伝毒性に対する相加効果が認められたが、明らかな相乗作用は認められなかった。異なる遺伝毒性発がん物質の組み合わせ、あるいは複合効果が報告されている物質同士の組み合わせにおいて、複合作用がどのように

現れるかを検討する必要がある(太田)。

低用量域での遺伝毒性発がん物質の作用を論議する際に重要な因子は DNA 損傷(付加体)の定量である。特に質量分析機(MS)の検出感度の向上は著しく、低用量域での DNA 損傷の定量と突然変異誘発の相関を調べることも可能になってきた。本研究班において、過酸化脂質由来の 12 種類の DNA 付加体の同時定量系を確立した。さらにアクリルアミドの引き起こす DNA 付加体のうち *N7-GA-Gua* の既存の定量法を改良し、感度、信頼性を向上させた。この手法でアクリルアミドを経口投与したラットの各臓器で DNA 付加体が検出された。in vitro および in vivo 遺伝毒性試験で用いた DNA 試料について DNA 損傷を定量し、DNA 損傷と突然変異との関連を明らかにすることが閾値形成機構を考える上で重要である(松田)。

本研究班の主要なテーマは、遺伝毒性発がん物質の閾値であるが、どのような物質を指して遺伝毒性物質とするかは明確ではない。代表的な遺伝毒性試験である Ames 試験の結果をもって遺伝毒性物質とする場合が多いが、バクテリアの試験結果をもって in vivo (ラット、マウス)での発がん作用を推測することには問題がある。バクテリアには強い遺伝毒性を示しても in vivo では遺伝毒性や発がん性を示さないかきわめて弱い場合(例えば MX)や、逆にバクテリアには遺伝毒性を示さないが、in vivo では遺伝毒性発がん作用を示す物質(例えば urethane)もある。したがって、発がんに遺伝毒性が介在しているかを検討する最も信頼できる方法は、ラット(マウス)の発がんの標的臓器において遺伝毒性を検出する手法である。本研究班では、SD ラットを遺伝的背景とする遺伝毒性試験用のトランスジェニックラット *gpt delta* を樹立し、特許を取得した。SD *gpt delta* ラットに、臭素酸カリウムを飲水投与すると発がんの標的臓器(腎臓)において G:C→A:T 変異と欠失変異を誘発した。欠失変異の誘発は、

本間班員のヒト TK6 細胞に臭素酸カリウムを曝露した際にも観察されている。さらに SD *gpt* delta ラットを F344 ラットにバッククロスし F344 *gpt* delta ラットを樹立した。F344 *gpt* delta ラットに構造の類似した発がん物質(2,4-DAT)と非発がん物質(2,6-DAT)を投与し、標的臓器(肝臓)と非標的臓器(腎臓)での遺伝毒性を検索した。その結果、2,4-DAT のみに肝臓で変異頻度の上昇を認めた。腎臓では 2,4-DAT、2,6-DAT とともに遺伝毒性を示さなかった。以上の結果は、F344 *gpt* delta ラットが、遺伝毒性を発がんの標的臓器において検出する可能性を示している(能美)。

E. 結論

遺伝毒性発がん物質の閾値の有無は、変異のタイプや発がんが誘発される標的臓器により異なることが示唆された。低用量域での遺伝毒性発がん物質のリスクを評価する際には、複数の遺伝毒性物質の加算効果を考慮し、DNA 損傷の定量値に基づいて遺伝毒性、発がん性を考察することが重要である。発がんの標的臓器において遺伝毒性を検出する F344 *gpt* delta トランスジェニックラットを樹立した。

F. 健康危機情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) K. Matsui, M. Yamada, M. Imai, K. Yamamoto, T. Nohmi, 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, 45-478, 2006
- 2) M. Mazaki, K. Kataoka, T. Kinouchi, U. Vinitketkumnuen, M. Yamada, T. Nohmi, T. Kuwahara, S. Akimoto, T. Ohnishi, Inhibitory effects of caraway (*Carum carvi* L.) and its component on *N*-methyl-*N'*-nitro-*N'*-nitrosoguanidine-induced mutagenicity. J. Med. Invest., 53,123-133, 2006
- 3) M. Yamada, K. Matsui, T. Nohmi, Development of a bacterial hyper-sensitive tester strain for specific detection of the genotoxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons. Genes & Environ., 28, 23-30, 2006
- 4) M. Yamada, T. Nunoshiba, M. Shimizu, P. Grúz, H. Kamiya, H. Harashima, T. Nohmi, Involvement of Y-Family DNA polymerases in Mutagenesis by oxidized nucleotides in *Escherichia coli*. J. Bacteriol., 188, 4992-4995, 2006
- 5) N. Koyama, H. Sakamoto, M. Sakuraba, T. Koizumi, T., Takashima, Y., Hayashi, M., Matsufuji, H., Yamagata, K., Masuda, S., Kinae, N., M. Honma, Genotoxicity of acrylamide and glycidamide in human lymphoblastoid TK6 cells. Mutat. Res., 603, 151-158, 2006
- 6) H. Oka, K. Ikeda, H. Yoshimura, A. Ohuchida, M. Honma, Relationship between *p53* status and 5-fluorouracil sensitivity in 3 cell lines. Mutat. Res., 606, 52-60, 2006
- 7) Y. Umehayashi, M. Honma, T. Abe, H. Ryuto, H. Suzuki, T. Shimazu, N. Ishioka, M. Iwaki, F. Yatagai, Mutation induction after low-dose carbon-ion beam irradiation of frozen human cultured cells. Biological Sci. in Space, 19, 237-241, 2006
- 8) S. Ishikawa, Y. Sasaki, S. Kawaguchi, M. Mochizuki, M. Nagao, Characterization of

- genotoxicity of Kojic acid by mutagenicity in *Salmonella* and micronucleus induction in rodent liver, *Genes Environ*, 28, 31-37, 2006
- 9) 乙部史子、周佩欣、松井三郎、小田美光、松田知成、「HPLC-バイオアッセイを用いた下水処理排水中のDNA損傷性およびAhRリガンド活性の解析」環境工学研究論文集、第43巻、113-118, 2006
- 10) T. Matsuda, H. Yabushita, R.A. Kanaly, S. Shibutani, A. Yokoyama, Increased DNA Damage in ALDH2-Deficient Alcoholics, *Chem. Res. Toxicol.*, 19, 1374-1378, 2006
- 11) S.Y. Kim, N. Suzuki, Y.R. Santosh Laxmi, A. Umemoto, T. Matsuda, S. Shinya, Antiestrogens and the formation of DNA damage in rats: A comparison, *Chem. Res. Toxicol.*, 19, 852-858, 2006
- 12) P.H. Chou, S. Matsui, T. Matsuda, Detection and identification of dyes showing AhR-binding affinity in treated sewage effluents, *Wat.Sci.Tech.*, 53, 35-42, 2006
- 13) RA. Kanaly, T. Hanaoka, H. Sugimura, H. Toda, S. Matsui, T. Matsuda, Development of the adductome approach to detect DNA damage in humans, *Antioxid Redox Signal.*, 8, 993-1001, 2006
- 14) T. Umemura, K. Kanki, Y. Kuroiwa, Y. Ishii, K. Okano, T. Nohmi, A. Nishikawa, M. Hirose, In vivo mutagenicity and initiation following oxidative DNA lesion in the kidneys of rats given potassium bromate, *Cancer Sci.*, 97, 829-835, 2006
- 15) A. Takeiri, M. Mishima, K. Tanaka, A. Shioda, A. Harada, K. Watanabe, K. Masumura, T. Nohmi, 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
- 16) L. Jiang, Y. Zhong, S. Akatsuka, Y. Liu, K.K. Dutta, W. Lee, J. Onuki, K. Masumura, T. Nohmi, S. Toyokuni, Deletion and single nucleotide substitution at G:C in the kidney of *gpt* delta transgenic mice after ferric nitrilotriacetate treatment, *Cancer Sci.*, 97, 1159-1167, 2006
- 17) M. Ikeda, K. Masumura, K. Matsui, H. Kohno, K. Sakuma, T. Tanaka, T. Nohmi, Chemopreventive effects of nobiletin against genotoxicity induced by 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butane (NNK) in the lung of *gpt* delta transgenic mice, *Genes and Environ.* 28, 84-91, 2006
- 18) A.H. Hashimoto, K. Amanuma, K. Hiyoshi, H. Takano, K. Masumura, T. Nohmi, Y. Aoki, in vivo mutagenesis in the lungs of *gpt*-delta transgenic mice treated intratracheally with 1,6-dinitropyrene, *Environ. Mol. Mutagen.*, 47, 277-283, 2006
- 19) A. Nishikawa, K. Sai, K. Okazaki, H.Y. Son, K. Kanki, M. Nakajima, N. Kinae, T. Nohmi, J.E. Trosko, T. Inoue, M. Hirose, MX, a by-product of water chlorination, lacks in vivo genotoxicity in *gpt* delta mice but inhibits gap junctional intercellular communication in rat WB cells, *Environ. Mol. Mutagen.*, 47, 48-55, 2006
- 20) F. Barone, S.D. McCulloch, P. Macpherson, G. Maga, M. Yamada, T. Nohmi, A. Minoprio, F. Mazzei, T.A. Kunkel, P. Karran, M. Bignami, Replication of 2-hydroxyadenine-containing DNA and

- recognition by human MutS ·. DNA Repair, 5, 355–366, 2007
- 21) B. Burlinson, R.R. Tice, G. Speit, E. Agurell, S.Y. Brendler-Schwaab, A.R. Collins, P. Escobar, M. Honma, T.S. Kumaravel, M. Nakajima, Y.F. Sasaki, V. Thybaud, Y. Uno, M. Vasquez, A. Hartmann, Fourth International Workgroup on Genotoxicity testing: Results of the in vivo Comet assay workgroup Mutat. Res., 627, 31–35, 2007
 - 22) M.M. Moore, M. Honma, J. Clements, J. Bolcsfoldi, B. Burlinson, M. Cifone, J. Clark, P. Clay, R. Doppalapudi, M. Fellows, B. Gollapudi, S. Hou, J. Jenkinson, W. Muster, K. Pant, D.A. Kidd, E. Lorge, M. Lloyd, B. Myhr, M. O'Donovan, C. Riach, L.F. Stankowski, Jr., A.K. Thakur, F. Van Goethem, Mouse lymphoma thymidine kinase gene mutation assay: Meeting of the International Workshop on Genotoxicity Testing, San Francisco, 2005, recommendations for 24-h treatment. Mutat. Res., 627, 36–40, 2007
 - 23) W.W. Ku, A. Bigger, G. Brambilla, H. Glatt, E. Gocke, P.J. Guzzie, A. Hakura, M. Honma, H.-J. Martus, R.S. Obach, R. Roberts, Strategy for genotoxicity testing—Metabolic considerations Mutat. Res., 627, 59–77, 2007
 - 24) J. Wang, T. Chen, M. Honma, L. Chen, M. Moore, 3'-Azido-3'-deoxythymidine induces deletions in L5178Y mouse lymphoma cells. Environ. Mol. Mutagen., 48, 248–257, 2007
 - 25) M. Honma, M. Sakuraba, T. Koizumi, Y. Takashima, H. Sakamoto, M. Hayashi, Non-homologous end-joining for repairing I-SceI-induced DNA double strand breaks in human cells. DNA Repair, 6, 781–188, 2007
 - 26) Y. Luan, T. Suzuki, R. Palanisamy, T. Takashima, H. Sakamoto, M. Sakuraba, T. Koizumi, M. Saito, H. Matsufuji, K. Yamagata, T. Yamaguchi, M. Hayashi, M. Honma, Potassium bromate treatment predominantly causes large deletions, but not GC>TA transversion in human cells. Mutat. Res., 619, 113–123, 2007
 - 27) E. Newwirth, M. Honma, A. Grosovsky, Interchromosomal crossover in human cell is associated with long gene conversion tracts. Mol. Cell. Biol., 27, 5261–5274, 2007
 - 28) F. Yatagai, Y. Umebayashi, M. Suzuki, T. Abe, H. Suzuki, T. Shimazu, M. Ishioka, M. Iwaki, M. Honma, Influence of low-dose and low-dose-rate ionizing radiation on mutation induction in human cells. Advan. Space Res., 40, 470–473, 2007
 - 29) P.H. Chou, S. Matsui, K. Misiaki, T. Matsuda, Isolation and identification of xenobiotic aryl hydrocarbon receptor ligands in dyeing wastewater, Environ. Sci. Technol., 41, 652–657, 2007
 - 30) R.A. Kanaly, S. Matsui, T. Hanaoka, T. Matsuda, Application of the adductome approach to assess intertissue DNA damage variations in human lung and esophagus, Mutat. Res., 625, 83–93, 2007
 - 31) K. Misiaki, H. Kawami, T. Tanaka, Y. Handa, M. Nakamura, S. Matsui, T. Matsuda, Aryl hydrocarbon receptor ligand activity of polycyclic aromatic ketones and polycyclic aromatic quinones, Environmental Toxicology and Chemistry, 26, 1370–1379, 2007

- 32) T. Matsuda, A. Matsumoto, M. Uchida, R. Kanaly, K. Misaki, S. Shibutan, T. Kawamoto, K. Kitagawa, K. Nakayam, K. Tomokuni, M. Ichiba, Increased formation of hepatic Λ^2 -ethylidene-2'-deoxyguanosine DNA adducts in aldehyde dehydrogenase 2 knockout mice treated with ethanol, *Carcinogenesis*, 28, 2363-6, 2007
- 33) K. Misaki, S. Matsui, T. Matsuda, Metabolic enzyme induction by HepG2 cells exposed to oxygenated and nNon-oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons, *Chem. Res. Toxicol.*, 20, 277-283, 2007
- 34) M. Ikeda, K. Masumura, Y. Sakamoto, B. Wang, M. Neno, K. Sakuma, I. Hayata, T. Nohmi, Combined genotoxic effects of radiation and a tobacco-specific nitrosamine in the lung of *gpt* delta transgenic mice, *Mutat. Res.*, 626, 15-25, 2007
- 35) Y. Kuroiwa, T. Umemura, A. Nishikawa, K. Kanki, Y. Ishii, Y. Kodama, K. Masumura, T. Nohmi, M. Hirose, Lack of in vivo mutagenicity and oxidative DNA damage by flumequine in the livers of *gpt* delta mice, *Arch. Toxicol.*, 81, 63-69, 2007
- 36) D.J. Tweats, D. Blakey, R.H. Heflich, A. Jacobs, S.D. Jacobsen, T. Morita, T. Nohmi, M.R. O'donovan, Y.F. Sasaki, T. Sofuni, R. Tice, Report of the IWGT working group on strategies and interpretation of regulatory in vivo tests I. Increases in micronucleated bone marrow cells in rodents that do not indicate genotoxic hazards, *Mutat. Res.*, 627, 78-91, 2007
- 37) D.J. Tweats, D. Blakey, R.H. Heflich, A. Jacobs, S.D. Jacobsen, T. Morita, T. Nohmi, M.R. O'donovan, Y.F. Sasaki, T. Sofuni, R. Tice, Report of the IWGT working group on strategy/interpretation for regulatory in vivo tests II. Identification of in vivo-only positive compounds in the bone marrow micronucleus test, *Mutat. Res.* 627, 92-105, 2007
- 38) A.H. Hashimoto, K. Amanuma, K. Hiyoshi, Y. Sugawara, S. Goto, R. Yanagisawa, H. Takano, K. Masumura, T. Nohmi, Y. Aoki, Mutations in the lungs of *gpt* delta transgenic mice following inhalation of diesel exhaust, *Environ. Mol. Mutagen.*, 48, 682-693, 2007
- 39) T. Umemura, Y. Kuroiwa, M. Tasaki, T. Okamura, Y. Ishii, Y. Kodama, T. Nohmi, K. Mitsumori, A. Nishikawa, M. Hirose, Detection of oxidative DNA damage, cell proliferation and in vivo mutagenicity induced by dicyclanil, a non-genotoxic carcinogen, using *gpt* delta mice, *Mutat. Res.*, 633, 46-54, 2007
- 40) Y. Aoki, A.H. Hashimoto, K. Akanuma, M. Matsumoto, K. Hiyoshi, H. Takano, K. Masumura, K. Itoh, T. Nohmi, M. Yamamoto, Enhanced spontaneous and benzo(a)pyrene-induced mutations in the lung of *Nrf2*-deficient *gpt* delta mice, *Cancer Res.*, 67, 5643-5648, 2007
- 41) A. Takeiri, M. Mishima, K. Tanaka, A. Shioda, A. Hrada, K. Masumura, T. Nohmi, Mutation spectra in cisplatin- and transplatin-treated GDL1 cells clarified the different mode of action of these compounds in mammalian cells, *Genes and Environ.*, 29, 89-99, 2007
- 42) A. Xu, L.B. Smilenov, P. He, K. Masumura, T. Nohmi, Z. Yu, T.K. Hei, New insight into intrachromosomal deletions induced by chrysotile in *gpt* delta transgenic, *Environ. Health Perspective*, 115, 87-92, 2007

- 43) K. Hidaka, M. Yamada, H. Kamiya, C. Masutani, H. Harashima, F. Hanaoka, T. Nohmi, Specificity of mutations induced by incorporation of oxidized dNTPs into DNA by human DNA polymerase η . *DNA Repair*, 7, 497-506, 2008
- 44) T. Nohmi, N. Toyoda-Hokaiwado, M. Yamada, K. Masumura, M. Honma, S. Fukushima, International symposium on genotoxic and carcinogenic thresholds, *Genes Environ.*, 30, 101-107, 2008
- 45) T. Nohmi, M. Yamada, Grúz P, DNA Repair and DNA damage tolerance in archaea: Extreme environments and genome integrity, *Archaea: New models for prokaryotic biology*, pp.147-169, (2008) Norwich, UK, Caister Academic Press.
- 46) F. Yatagai, Y. Umebayashi, M. Honma, K. Sugawara, Y. Takayama, F. Hanaoka, Mutagenic radioadaptation in a human lymphoblastoid cell line, *Mutat. Res.*, 638, 48-55, 2008
- 47) M. Yasui, E. Suenaga, N. Koyama, C. Masutani, F. Hanaoka, P. Gruz, S. Shibusani, T. Nohmi, M. Hayashi, M. Honma, Mismatching properties of 2'-deoxyinosine, a nitric oxide-derived DNA Adduct, during translesion synthesis catalyzed by human DNA polymerases, *J. Mol. Biol.*, 377, 1015-1023, 2008
- 48) F. Yatagai, M. Suzuki, N. Ishioka, H. Ohmori, M. Honma, Repair of I-*ScaI* Induced DSB at a specific site of chromosome in human cells: influence of low-dose, low-dose-rate gamma-rays, *Radiat. Environ. Biophys.*, 47, 439-44, 2008
- 49) 本間正充、遺伝毒性物質に閾値はあるのか? *ファルマシア*, 45, 143-148, 2009
- 50) M. Nagao, S. Ishikawa, H. Nakagama, M. Watanabe, Extrapolation of the animal carcinogenesis threshold to humans, *Genes Environ.*, 30, 160-165, 2008
- 51) T. Sakai, S. Tokishita, K. Mochizuki, A. Motomiya, H. Yamagata, T. Ohta, Mutagenesis of uracil-DNA glycosylase deficient mutants of the extremely thermophilic eubacterium *Thermus thermophilus*, *DNA Repair*, 7, 663-669, 2008
- 52) Y. Okamoto, P.H. Chou, S.W. Kim, N. Suzuki, Y.R. Laxmi, K. Okamoto, X. Liu, T. Matsuda, S. Shibusani, Oxidative DNA damage in XPC-knockout and its wild mice treated with equine estrogen, *Chem. Res. Toxicol.*, 21, 1120-1124, 2008
- 53) K. Misaki, M. Suzuki, M. Nakamura, H. Handa, M. Iida, T. Kato, S. Matsui, T. Matsuda, Aryl Hydrocarbon Receptor and Estrogen Receptor Ligand Activity of Organic Extracts from Road Dust and Diesel Exhaust Particulates, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 55, 199-209, 2008
- 54) H. Nagayoshi, A. Matsumoto, R. Nishi, T. Kawamoto, M. Ichiba, T. Matsuda, Increased formation of gastric *N*2-ethylidene-2'-deoxyguanosine DNA adducts in aldehyde dehydrogenase-2 knockout mice treated with ethanol, *Mutat. Res.*, 673, 74-77, 2009
- 55) K. Yamauchi, S. Kakinuma, S. Sudo, S. Kito, Y. Oota, T. Nohmi, K. Masumura, M. Nishimura, Y. Shimada, Differential effects of low- and high-dose X-rays on *N*-ethyl-*N*-nitrosourea-induced mutagenesis in thymocytes of B6C3F1 *gpt*-delta mice,

Mutat. Res., 640, 27-37, 2008

- 56) T. Nohmi, Possible mechanisms of practical thresholds for genotoxicity, *Genes Environ.*, 30, 108-113, 2008
- 57) A. Nishikawa, T. Umemura, Y. Ishii, M. Tasaki, T. Okamura, T. Inoue, K. Masumura, T. Nohmi, in vivo approaches to study mechanism of action of genotoxic carcinogens, *Genes Environ.*, 30, 120-124, 2008
- 58) T. Umemura, M. Tasaki, A. Kijima, T. Okamura, T. Inoue, Y. Ishii, Y. Suzuki, N. Masui, T. Nohmi, A. Nishikawa, Possible participation of oxidative stress in causation of cell proliferation and in vivo mutagenicity in kidneys of *gpt* delta rats treated with potassium bromate, *Toxicol.*, 257, 46-52, 2009
- 59) K. Masumura, T. Nohmi, Spontaneous mutagenesis in rodents: spontaneous gene mutations identified by neutral reporter genes in *gpt* delta transgenic mice and rats, *J. Health Sci.*, 55, 40-49, 2009
- 60) A. Shibata, D. Maeda, H. Ogino, M. Tsutsumi, T. Nohmi, H. Nakagama, T. Sugimura, H. Teraoka, M. Masutani, Role of Parp-1 in suppressing spontaneous deletion mutation in the liver and brain of mice at adolescence and advanced age, *Mutat. Res.*, in press.
- 61) A.H. Hashimoto, K. Amanuma, K. Masumura, T. Nohmi, Y. Aoki, in vivo mutagenesis caused by diesel exhaust in the testis of *gpt* delta transgenic mice, *Genes Environ.*, 31, 1-8 (2009).
- Yamamoto, T. Nohmi, Roles of replicative and specialized DNA polymerases in frameshift mutagenesis, 第29回日本分子生物学会年会(2006.6)
- 2) M. Yamada, K. Matsui, T. Nohmi, Control of multiple DNA polymerases dealing with lesions induced by environmental mutagens, 36th Annual Meeting of the European Environmental Mutagen Society (2006.7)
- 3) 山田雅巳, 布柴達男, 清水雅富, Petr Grúz, 紙谷浩之, 原島秀吉, 能美健彦 大腸菌における酸化ヌクレオチドの取り込みとγ-ファミリーDNAポリメラーゼの関与, 日本遺伝学会第78回大会(2006.9)
- 4) 山田雅巳, 松井恵子, 能美健彦 多環芳香族炭化水素の変異原性を高感度, 特異的に検出するバクテリアテスター株の開発, 第65回日本癌学会学術総会(2006.9)
- 5) 山田雅巳, 松井恵子, 能美健彦 酸化変異原を高感度に検出するバクテリアテスター株の開発, 日本環境変異原学会第35回大会(2006.11)
- 6) M. Yamada, K. Hidaka, H. Kamiya, C. Masutani, H. Harashima, F. Hanaoka, T. Nohmi, Specificity of mutations associated with misincorporation of oxidized dNTPs by human DNA polymerase eta in vitro, Gordon Research Conference-Mammalian DNA Repair (2007.2)
- 7) 本間正充 In vitro コメット試験は遺伝毒性のエビデンスになりうるか? 日本環境変異原学会MMS研究会第49回定例会 (2006.5)
- 8) M. Honma, M. Sakuraba, T. Koizumi, Y. Takashima, H. Sakamoto, M. Hayashi, Error-prone and error-free nonhomologous end-joining for repairing DNA double strand

2. 学会発表

- 1) M. Yamada, K. Matsui, M. Imai, K.

- breaks in human cells. 36th Annual Meeting of the European Environmental Mutagen Society (2006.7)
- 9) M. Honma, K. Yamakage, *In vitro* Comet assay—A possible candidate as a member of the standard test battery. JaCVAM/MMS Joint Seminar—Pros & Cons of Comet Assay—(2006.8)
- 10) 本間正充、高島良生、安井学、谷田貝文夫、鈴木雅雄、林 真、低放射線繊維による相同組換え修飾効果 日本放射線影響学会第 49 回大会 (2006.9)
- 11) 谷田貝文夫、梅林志浩、本間正充、阿部知子、鈴木ひろみ、島津徹、石岡憲昭、岩本正哉、ISS 利用実験計画:宇宙環境の突然変異に及ぼす影響の推定 日本放射線影響学会第 49 回大会 (2006.9)
- 12) 高島良生、櫻庭真弓、小泉朋子、坂本浩子、安井学、林 真、本間正充、ヒト細胞に誘導された DNA 二重鎖切断修復とその細胞周期依存性 日本放射線影響学会第 49 回大会 (2006.9)
- 13) A. Kohara, T. Ozawa, A. Ohtani, S. Shioda, K. Takeuchi, K. Morita, T. Hirano, M. Honma, T. Suzuki, T. Masui, H. Mizusawa, High resolution genomic analysis of immortal human cells and tumor cells using array-based comparative genomic hybridization. Environmental Mutagen Society 37th Annual Meeting (2006.9)
- 14) Y. Luan, M. Honma, T. Suresh, M. Kogi, T. Yamaguchi, T. Suzuki, CGH and SNP array are powerful tools for chromosome analysis. Environmental Mutagen Society 37th Annual Meeting (2006.9)
- 15) H. Matsufuji, M. Chino, M. Hayashi, M. Honma, K. Yamagata, Genotoxicity of quercetin in the presence of reactive oxygen species using human lymphoblastoid TK6 cells. Environmental Mutagen Society 37th Annual Meeting (2006.9)
- 16) 本間正充、鈴木雅雄、谷田貝文夫 染色体切断に対する放射線影響の検討 日本宇宙生物科学会第 20 回大会(2006.9)
- 17) 梅林志浩、菅澤薫、本間正充、島津徹、鈴木ひろみ、石岡憲昭、岩本正哉、谷田貝文夫 放射線適応応答による突然変異の抑制 ISS 利用実験計画:宇宙環境の突然変異に及ぼす影響の推定 日本宇宙生物科学会第 20 回大会(2006.9)
- 18) M. Honma, M. Sakuraba, T. Koizumi, T. Takashima, H. Sakamoto, M. Hayashi, Requirement of p53 for maintenance of chromosome integrity against DNA double strand breaks. DNA Repair 2006 (2006.9)
- 19) 本間正充、DNA2 本鎖切断修復によるゲノム安定化機構 日本環境変異原学会第 35 回大会(2006.11)
- 20) 齊藤美香、高島良生、坂本浩子、林 真、松藤寛、山形一雄、本間正充、簡便な *in vitro* コメット試験法の確立とその評価 日本環境変異原学会第 35 回大会(2006.11)
- 21) 小山直己、加藤竜也、本間正充、林 真、増田修一、木苗直秀 ヒトリンパ芽球トランスジェニック細胞を用いたアクリルアミドおよびグリシダミドの遺伝毒性試験 日本環境変異原学会第 35 回大会(2006.11)
- 22) 谷田貝文夫、梅林志浩、鈴木雅雄、岩本正哉 染色体特定部位 DSB の修復:低線量/低線量率ガンマ線照射による影響 日本環境変異原学会第 35 回大会(2006.11)
- 23) 高島良生、小泉朋子、櫻庭真弓、林 真、本

- 間正充、ライブセルイメージングによる小核の運命の追跡 日本環境変異原学会第35回大会(2006.11)
- 24) 松藤寛、千野誠、本間正充、林 真、山形一雄、ヒトリンパ芽球細胞株 TK6 を用いた亜硝酸ナトリウムと抗酸化剤の複合遺伝毒性 日本環境変異原学会第35回大会(2006.11)
- 25) M. Honma, DNA double strand break inducing chromosome instability and its genetic consequences. International Conference on Biomarkers in Health and Environmental Management & XXXII Annual Meeting Environmental Mutagen Society of India (2007.1)
- 26) M. Honma, DNA double strand breaks inducing chromosome instability in p53-deficient human cells. Key Stone Symposia -Genome Instability and Repair (2007.1)
- 27) M. Nagao, Do we have enough data to demonstrate the presence of threshold in mutagenicity induced by genotoxic carcinogens? International Symposium-Threshold of Carcinogenicity and Genotoxicity, International Conference Center (2006.3)
- 28) 梅村隆志、岡野圭太、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* マウス肝の酸化的 DNA 損傷および in vivo 変異原性、第65回日本癌学会学術総会(2006, 9)
- 29) 蔣麗、鐘毅、赤塚慎也、劉玉亭、増村健一、能美健彦、豊國伸哉、トランスジェニックマウス *gpt delta* を用いた鉄ニトリロ三酢酸誘導の腎発がんモデルの DNA 変異を検出、第65回日本癌学会学術総会(2006, 9)
- 30) 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-ジオキサン誘発がん性および変異原性、第65回日本癌学会学術総会(2006, 9)
- 31) 池田恵、増村健一、松井恵子、甲野裕之、佐久間慶子、田中卓治、能美健彦、*gpt delta* トランスジェニックマウス肺における NNK 誘発突然変異に対する Nobiletin の化学予防効果の解析、第65回日本癌学会学術総会(2006, 9)
- 32) 増村健一、中江大、坂元康晃、高橋正一、鰐淵英機、梅村隆志、広瀬雅雄、能美健彦、F344系およびSD系 *gpt delta* ラットを用いたコリン欠乏アミノ酸食による内因性ラット肝発がん突然変異誘発能の解析、第65回日本癌学会学術総会(2006, 9)
- 33) 坂元康晃、増村健一、黒岩有一、今井聖子、林宏行、西川秋佳、広瀬雅雄、津田洋幸、能美健彦、ヒトプロト型 c-Ha-ras 導入 *gpt delta* トランスジェニックラットを用いた化学発がん高感受性モデルにおける突然変異誘発能の解析、第65回日本癌学会学術総会(2006, 9)
- 34) 田崎雅子、黒岩有一、神吉けい太、児玉幸夫、能美健彦、梅村隆志、西川秋佳、ベンタクロロフェノール誘発マウス肝 DNA の酸化的損傷ならびに in vivo 変異原性に及ぼす p53 の影響、第65回日本癌学会学術総会(2006, 9)
- 35) T. Nohmi, M. Ikeda, K. Masumura, Y. Sakamoto, B. Wang, M. Neno, K. Sakuma, I. Hayata, Evaluation of combined genotoxicity of low-dose-rate radiation and tobacco-specific nitrosamine NNK, The 49th Annual Meeting of the Japan Radiation

- 36) 能美健彦、増村健一、マウス個体で観察される欠失変異と点突然変異の分子解析、日本放射線影響学会 第 49 回大会 (2006, 9)
- 37) 塩見尚子、野代勝子、鬼頭靖司、増村健一、能美健彦、塩見忠博、生殖細胞と体細胞における自然および放射線誘発突然変異発生率の比較研究 II、精細胞期照射における放射線誘発突然変異、日本放射線影響学会 第 49 回大会 (2006, 9)
- 38) 山内一己、柿沼志津子、須藤聡美、鬼頭靖司、能美健彦、増村健一、島田義也、マウス胸腺リンパ腫における放射線とエチルニトロソウレアの複合影響、日本放射線影響学会 第 49 回大会 (2006, 9)
- 39) T. Nohmi, M. Ikeda, K. Masumura, Y. Sakamoto, B. Wang, M. Neno, K. Sakuma, I. Hayata, Combined genotoxicity of low-dose-rate radiation and tobacco-specific nitrosamine NNK, CODATA 2006 in Beijing, China (2006, 10)
- 40) K. Yamauchi, S. Kakinuma, S. Sudo, S. Kito, Y. Oota, T. Nohmi, Y. Shimada, Mutation frequency of thymocytes after combined exposure of X-rays with *N*-ethyl-*N*-nitrosourea is dependent on X-ray-dose, 日本環境変異原学会第 35 回大会 (2006, 11)
- 41) Y. Sakamoto, K. Masumura, S. Takahashi, D. Nakae, T. Nohmi, Dietary choline deficiency induces oxidative mutagenesis in the liver of *gpt* delta rats, 日本環境変異原学会第 35 回大会 (2006, 11)
- 42) 山田 雅巳, 日高 勝彦, 紙谷 浩之, 益谷 央豪, 原島 秀吉, 花岡 文雄, 能美 健彦、ヒト DNA ポリメラーゼ η が酸化 dNTP を取り込むことで誘発される突然変異の特異性について、第 79 回日本遺伝学会年会 (2007.9)
- 43) 山田雅巳、松井恵子、能美健彦、酸化ピリミジン損傷を誘発する変異原を高感度に検出する新規なサルモネラ株、日本環境変異原学会第36回大会/アジア環境変異原学会第1回大会 (2007.11)
- 44) 本間正充、代謝物の遺伝毒性評価 第 34 回日本トキシコロジー学会学術年会(2007.6)
- 45) M. Honma, DNA double strand breaks inducing genomic instability in human cells. 13th International Congress of Radiation Research (2007.7)
- 46) F. Yatagai, M. Suzuki, N. Ishioka, H. Ohmori, M. Honma, Repair of dsb at a specific site of chromosome: influence of low-dose/low-dose-rate gamma-rays. 13th International Congress of Radiation Research (2007.7)
- 47) M. Honma, Genotoxic assessment of drug metabolite and ICH guideline. Chinese National Conference on Drug Toxicology 2007 (2007.8)
- 48) M. Honma, A multi-endpoints in vitro genotoxicity test system consisting of Comet, micronuclei, and gene mutation assays. 6th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences (2007.8)
- 49) M. Honma, Y. Takashima, M. Yasui, N. Koyama, T. Koizumi, M. Sakuraba, H. Sakamoto, K. Sugimoto, M. Hayashi, Tracing Micronuclei by Fluorescent Live Cell Imaging Analysis. 37th European Environmental Mutagen Society (2007.9)
- 50) M. Honma, Genomic instability caused