

Figure 1 . Mutation assay (*gpt* Assay, *spi*- Assay)

Table 1
gpt mutation frequencies in livers of rat treated with Dammar resin (Non-DMBDD treatment groups)

DMBDD	Animal		Independent <i>gpt</i> mutations	<i>gpt</i> Mutation Frequency ($\times 10^{-6}$)	Average of <i>gpt</i> Mutation Frequency ($\times 10^{-6}$)
	No.	Total Population			
-	0				
	501	985,500	14	14.2	
	502	1,914,000	9	4.7	
	503	1,122,000	12	10.7	
	504	2,398,500	12	5.0	
	505	1,039,500	4	3.8	
	506	2,031,000	10	4.9	7.2 \pm 4.2
-	2%				
	401	1,302,000	6	4.6	
	402	1,999,500	16	8.0	
	403	1,342,500	5	3.7	
	404	1,272,000	11	8.6	
	405	1,435,500	12	8.4	
	406	2,466,000	10	4.1	6.2 \pm 2.3

Table 2
gpt mutation spectra in livers of rat treated with Dammar resin (Non-DMBDD treatment groups)

DMBDD	Type of mutation	Dammar resin	
		0	2%
-	Base substitution		
	Transition		
	G:C to A:T	17 (27.9) ^a	24 (40.0)
	A:T to G:C	2.5 ± 3.2 ^b	2.4 ± 0.9
		4 (6.6)	6 (10.0)
		0.4 ± 0.5	0.6 ± 0.8
	Transversion		
	G:C to T:A	24 (39.3)	13 (21.7)
	G:C to C:G	2.3 ± 1.4	1.5 ± 0.8
		2 (3.3)	2 (3.3)
		0.3 ± 0.7	0.2 ± 0.3
	A:T to T:A	2 (3.3)	2 (3.3)
	A:T to C:G	0.1 ± 0.3	0.2 ± 0.3
		0 (0)	1 (1.7)
		0	0.1 ± 0.2
	Deletion		
	Single bp	7 (11.5)	10 (16.7)
		1.0 ± 0.8	1.1 ± 1.3
	Over 2bp	1 (1.6)	0 (0)
		0.1 ± 0.2	0
	Insertion	4 (6.6)	2 (3.3)
		0.6 ± 0.5	0.3 ± 0.4
	Total	61 (100)	60 (100)
		7.2 ± 4.2	6.2 ± 2.4

^a Number of mutations (%)

^b Mutation frequency ($\times 10^6$)

Table 3
Spi- mutant frequencies in livers of rat treated with Dammar resin (Non-DMBDD treatment groups)

Treatment		Animal	Total	Spi-	Mutant Frequency	Average
DMBDD	Dammar resin	No.	Population	Mutants	($\times 10^{-6}$)	($\times 10^{-6}$)
-	0	501	895,500	2	2.23	
		502	870,000	6	6.90	
		503	1,194,000	5	4.19	
		504	1,954,500	10	5.12	
		505	1,059,000	9	8.50	
		506	1,542,000	10	6.49	5.70 \pm 2.2
-	2%	401	1,147,500	6	5.23	
		402	496,500	2	4.03	
		403	556,500	6	10.8	
		404	1,152,000	3	2.60	
		405	1,089,000	7	6.43	
		406	1,351,500	8	5.92	5.8 \pm 2.8

Table 4
gpt mutation frequencies in livers of rat treated with Dammar resin (DMBDD treatment groups)

Treatment	Animal	Total	Independent	<i>gpt</i> Mutation	Average of <i>gpt</i>
DMBDD	No.	Population	<i>gpt</i> mutations	Frequency	Mutation Frequency
	Dammar resin			($\times 10^{-6}$)	($\times 10^{-6}$)
+	0	28,000	9	321.4	
		30,875	10	323.9	
		29,500	13	440.7	
		25,625	6	234.1	
		11,550	4	346.3	
		22,250	6	269.7	322.7 \pm 70.9
+	2%	25,375	6	236.5	
		27,250	13	477.1	
		28,125	15	533.3	
		43,250	17	393.1	
		21,625	10	462.4	
		52,000	14	269.2	395.3 \pm 119.5

Table 5
gpt mutation spectra in livers of rat treated with Dammar resin (DMBDD treatment groups)

DMBDD +	Type of mutation	Dammar resin	
		0	2%
Base substitution			
Transition			
	G:C to A:T	12 (25.0) ^a	18 (24.0)
	A:T to G:C	82.1 ± 25.6 ^b	101.3 ± 61.0
	A:T to G:C	13 (27.1)	14 (18.7)
	A:T to C:G	103.0 ± 89.9	68.2 ± 38.1
Transversion			
	G:C to T:A	5 (10.4)	11 (14.7)
	G:C to C:G	31.7 ± 38.8	62.0 ± 40.1
	A:T to T:A	1 (2.1)	3 (4.0)
	A:T to T:A	6.0 ± 14.6	15.9 ± 18.1
	A:T to C:G	10 (20.8)	18 (24.0)
	A:T to C:G	60.0 ± 64.3	86.2 ± 44.6
	A:T to C:G	7 (14.6)	6 (8.0)
	A:T to C:G	39.9 ± 53.9	30.5 ± 28.7
Deletion			
	Single bp	0 (0)	3 (4.0)
	Over 2bp	0 (0)	17.5 ± 20.5
	Over 2bp	0 (0)	2 (2.7)
	Over 2bp	0 (0)	13.8 ± 21.6
Insertion			
	Insertion	0 (0)	0 (0)
	Insertion	0 (0)	0 (0)
Total			
	Total	48 (100)	75 (100)
	Total	322.7 ± 70.9	399.7 ± 114.2

^a Number of mutations (%)

^b Mutation frequency ($\times 10^6$)

Table 6
Spi- mutant and mutation frequencies in livers of rat treated with Dammar resin (DMBDD treatment groups)

Treatment		Animal	Total	Spi-	Mutant Frequency	Average
DMBDD	Dammar resin	No.	Population	Mutants	($\times 10^{-6}$)	($\times 10^{-6}$)
+	0	301	27,000	5	185.2	
		302	72,250	10	138.4	
		303	36,375	8	219.9	
		304	102,000	12	117.6	
		305	51,250	6	117.1	
		306	93,875	13	138.5	152.8 \pm 41.2
+	2%	201	80,875	10	123.6	
		202	56,000	9	160.7	
		203	70,750	15	212.0	
		204	43,250	5	115.6	
		205	119,500	23	192.5	
		206	50,875	7	137.6	157.0 \pm 38.7

Table 7
gpt mutant frequencies in livers of rats treated with IQ and Kojic acid

Treatment	Animal No.	Total Population	6TG ^r Mutants	Mutant Frequency ($\times 10^{-6}$)	Average ($\times 10^{-6}$)
0	611	223,500	10	4.47	
	612	205,950	6	2.91	
	613	214,600	11	5.13	
	621	136,450	5	3.66	
	622	444,500	11	2.47	
	623	175,500	5	2.85	3.6 \pm 1.0
0.01%IQ	511	54,400	16	29.41	
	512	69,500	11	15.83	
	513	41,800	13	31.10	
	521	45,500	9	19.78	
	522	37,980	14	36.86	
	523	61,000	21	34.43	27.9 \pm 8.3*

*Significantly different from control group.

Table 7 (Continued)
gpt mutant frequencies in livers of rats treated with IQ and Kojic acid

Treatment	Animal No.	Total Population	6TG ^r Mutants	Mutant Frequency ($\times 10^{-6}$)	Average ($\times 10^{-6}$)
2.0%Kojic acid	411	206,000	2	9.71	
	412	242,000	1	4.13	
	413	266,000	2	7.52	
	421	198,000	1	5.05	
	422	502,000	2	3.98	
	423	242,000	1	4.13	5.8 \pm 2.4

Table 8
Spi- mutant frequencies in liverslivers of rats treated with IQ and Kojic acid

Treatment	Animal No.	Total Population	Spi- Mutants	Mutant Frequency ($\times 10^{-5}$)	Average of. ($\times 10^{-5}$)
0	611	420,000	10	2.38	1.8 \pm 0.5
	612	390,000	7	1.82	
	613	660,500	16	2.42	
	621	360,000	5	1.38	
	622	620,000	9	1.46	
	623	210,000	13	1.43	
0.01%	511	190,000	18	9.26	7.4 \pm 2.6*
	512	300,000	18	5.99	
	513	320,000	16	7.50	
	521	350,000	19	5.48	
	522	140,000	14	11.74	
	523	270,000	18	7.83	

*Significantly different from control group.

Table 8 (continued)
Spi- mutant frequencies in livers of rats treated with IQ and Kojic acid

Treatment	Animal No.	Total Population	Spi- Mutants	Mutant Frequency ($\times 10^{-6}$)	Average of. ($\times 10^{-6}$)
2.0%Kojic acid	411	281,000	1	3.56	
	412	481,000	2	4.16	
	413	501,500	1	1.99	
	421	661,000	2	3.03	
	422	590,500	2	3.39	
	423	877,000	1	1.14	2.9 \pm 1.1

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・発がん性の短期包括的試験法の開発に関する研究
平成 22 年度分担研究報告書

中期発がん性試験に関する研究

研究分担者：今井田克己 香川大学医学部 腫瘍病理学 教授

研究要旨

前年度までの検討で、増粘安定剤として食品への使用が認められていたダンマル樹脂の発がん修飾作用について F344 ラットを用いて検討した結果、肝臓と甲状腺に腫瘍性変化をもたらす可能性が示唆された。これを受けて、ダンマル樹脂による各臓器への影響を遺伝子レベルで検索することを目的に、同様の実験を雄 F344 background の *gpt delta* ラットを用いて行っている。実験デザインとしては、ラット多臓器中期発がん性試験法を用いて、雄 *gpt delta* ラットに 5 種類の発がん物質によるイニシエーションを行った後、ダンマル樹脂を 0%, 0.03%, 2% の濃度で混じた飼料を経口投与した。その結果、2% 投与群において、肝臓の絶対重量ならびに相対重量の増加が見られた。2% 投与群では TP、Alb、T-Cho、BUN、K の有意な高値が観察された。さらに 2% 投与群において、肝の前癌病変である胎盤型 glutathione S-transferase (GST-P) 陽性細胞巢の面積ならびに発生個数の有意な増加が見られた。病理組織学的所見では、肝臓において F344 ラット同様、肝細胞癌の発生頻度に有意差は認められなかった。また、甲状腺において濾胞細胞過形成の平均発生個数において増加傾向を示したが、腫瘍性病変の促進作用は見られなかった。また、その他の臓器の病理組織学的変化については現在検討中である。以上より、ダンマル樹脂は *gpt delta* ラットにおいても高用量群において肝臓での発がんの促進作用を有する可能性が示唆された。しかし、F344 ラットで示唆された甲状腺に対する作用に関しては明らかではなかった。また、F344 ラットと比較して、F344 background の *gpt delta* ラットでは、発がん促進作用に対する感受性においてわずかながら差異が認められた。

A. 研究目的

以前の実験において、増粘安定剤として食品への使用が認められていたダンマル樹脂の主要臓器における発がん修飾作用について、F344 ラットによるラット多臓器中期発がん試験法を用いて検討した結果、肝臓および甲状腺に腫瘍性変化をもたらす可能性があることが示唆された。これを受けて、各臓器での遺伝子レベルでの検索を行うことを目的として、雄 F344 background の *gpt delta* ラットを用いて同様の実験を行った。ダンマル樹脂は天然の食品添加物として、厚生労働省の既存添加物名簿収載品目リストに収載されていたが、現在、削除予定添加物名簿に記載されている。マレーシアなど東南アジアで、ラワン属の樹木から採取される軟質の現存樹脂であり、フタバガキ科 (*Shorea wiesneri* SCHRFF.) 又はナンヨウスギ科 (*Agathis dammara* L. C. RICHARD, *Agathis lanceolata* PANCH.) の分泌液より、熱時エタノール又は酢酸エチルで抽出し、ろ液から溶媒を留去し、乾燥して得られたもので、主成分は多糖類である。従来、油絵の保護ワニスとして使用されているが、現在増粘安定剤として食品

への使用が認められてきた。しかし、その発がんリスクや機序に関してはいまだ詳細な検討が行われていないのが現状である。そこで、今回、遺伝毒性を検討するため、F344 background の *gpt delta* ラットによる同様のラット中期発がん性試験法を用いて、ダンマル樹脂を経口投与させ、主要臓器における発がん修飾作用を検討した。

B. 研究方法

5 週齢の雄 *gpt delta* ラット 45 匹を日本エスエルシー株式会社(静岡)より購入し、約 1 週間の馴化飼育の後、各群 15 匹ずつ 3 群に配し、Fig.1 に示す実験デザインで動物実験を施行した。全群に実験開始日に 100mg/kg b.w. diethylnitrosamine (DEN, 東京化成, Cas No. 55-18-5)を腹腔内投与、第 2、5、8、11 日に 20mg/kg b.w. N-methylnitrosourea (MNU, Sigima, Cas No. 684-93-5)を腹腔内投与、第 14、17、20、23 日に 40mg/kg b.w. dimethylhydrazine (DMH, Aldrich, Cas No. 306-37-6)を皮下投与した。さらに、これらの投与と並行して第 1~2 週に 0.05%

N-butyl-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN, 東京化成, Cas No. 3817-11-6) を、第 3~4 週に 0.1% N-Bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine (DHPN, ナカライ, Cas No. 53609-64-6) をそれぞれ飲料水投与し (DMBDD 処置)、イニシエーション処置とした。実験開始第 5 週目から 1~5 群にそれぞれ 27 週間、ダンマル樹脂をオリエンタル MF 飼料中に 0%, 0.03%, 2% の濃度で混じて、それを自由に摂取させた。

動物の飼育はバリエーションシステムの動物室にて行い、室内の環境条件は温度 24 ± 2 度、湿度 $60 \pm 10\%$ 、12 時間蛍光灯照明、12 時間消灯の条件下で行った。被験物質の飼料への添加および固化化をオリエンタル酵母工業株式会社に依頼し、試験に供した。投与期間中、一般状態の観察を連日実施し、体重および摂餌量は毎週 1 回測定した。摂餌量は、毎週 1 回 7 日間の摂取量を、飲水量は毎週 2 回 3 日または 4 日間の摂取量をケージ単位で測定し、ケージの収容動物数と日数から 1 匹あたりの 1 日平均摂餌量を計算した。

実験開始より 32 週間後に、全生存例を麻酔下で、腹部大動脈から採血後に脱血致死させ、屠殺・剖検を行い、主要臓器を摘出し、病理組織学的検討ならびに肝臓における胎盤型 Glutathione S-transferase (GST-P) の免疫組織化学的検討を行った。

本研究の動物実験は全て香川大学総合生命科学研究センター、動物実験部門において行われ、動物実験の開始前には実験計画書を香川大学実験動物委員会に提出し、その承諾を得た上で実験動物の愛護上の問題に配慮し行った。

C. 研究結果

<一般状態および死亡動物>

DMBDD 処置中に 1 匹麻酔処置により死亡した。その他、ダンマル樹脂によると思われる一般状態への影響は観察されず、また、前記以外の死亡動物もなかった。

<体重>

試験期間中の各群の体重推移を Fig. 2 に示した。第 1, 17~22 週目、第 24 週目から屠殺時までにおいて、被験物質投与群の 0.03% 投与群において 0% (対照) 群と比較して有意に高値を示した。また、第 1 週目において 2% 投与群において 0% 群と比較して有意な高値を、第 12 週目から屠殺時までには有意な低値を示した。

<摂餌・飲水量>

試験期間中の各群の摂餌・飲水量の推移およびダンマル樹脂の総摂取量を Fig. 3, 4 および Table 1 に示した。摂餌量では、第 5, 6, 9, 11, 12, 16~23, 29 週目に 2% 投与群において 0% 投与群と比較して有意に低値を示した。さらに飲水量では、第 7, 13~17, 19, 21 週目に 0.03% 投与群において、第 7 週目に 2% 投与群において 0% 投与群と比較して高値を示した。また、ダンマル樹脂の実験期間での総摂取量は投与用量にほぼ依存していた。

<血液学的検査および生化学的検査>

血液学的検査の結果を Table 2 に示した。血液学的検査において、軽微な減少は認められたが、毒性学的変化は認められなかった。

血清生化学的検査の結果を Table 3 に示した。2% 投与群では、TP、Alb、T-Cho、BUN、K が 0% 投与群と比較して有意な高値を示した。

<臓器重量>

試験終了時の臓器の絶対重量と相対重量の結果を Table 4 に示した。2% 投与群において、肝臓および脾臓の絶対重量の有意な高値が観察され、肝臓では相対重量でも有意な高値が認められた。また、脳、副腎、精巣の相対重量も有意な高値を認めた。その他の臓器では有意な差異は認められなかった。

<肝の GST-P 陽性細胞巢>

GST-P 陽性細胞巢の肝臓切片全体の面積に対する発生個数ならびに面積の結果を Table 5 に示した。被験物質 2% 投与群において、GST-P 陽性細胞巢の発生個数ならびに面積の有意な増加を認めた。

<病理学的検査>

現在、病理学的検査が終了している肝臓と甲状腺の結果を示した。

肝臓の非腫瘍性、ならびに腫瘍性変化の発生頻度の結果を Table 6 に示す。2% 投与群において肝細胞癌が観察されたが、0% 投与群と比較して有意差は認められなかった。

甲状腺の過形成ならびに腫瘍性病変の発生頻度および平均発生個数の結果を Table 7 に示す。被験物質投与群は 0% 投与群と比較して、有意な差は見られなかったが、甲状腺の濾胞細胞過形成の発生個数においては、要量依存性の増加傾向が見られた。

また、その他の臓器の病理組織学的変化については現在検討中である。

D. 考察

今回、ダンマル樹脂の発がん修飾作用について、

gpt delta ラットを用いて検討している。死亡例一例は DMBDD 処置の際の麻酔を行って直後の死亡であり、麻酔の影響による死亡と推定される。

被験物質 0.03%投与群において、第 17 週目から屠殺時まで体重の有意な増加が見られたが、摂餌量では有意差は確認できなかった。さらに 2%投与群においては、第 12 週目から屠殺時まで有意な体重の低値が認められ、摂餌量も有意に少なかった。なお、これらの変化は、F344 ラットを用いた場合と同様の変化を示していた。

血液学的検査では、軽微な減少を示す項目はあったが、毒性学的に重要な変化ではないものと考えられた。また、血清生化学的検査では、TP、Alb、T-Cho、BUN、K の有意な増加が見られた。

臓器重量では、肝臓において絶対重量および相対重量ともに有意な増加が観察され、肝機能への影響が示唆された。

肝臓の GST-P 陽性細胞巢の肝臓切片全体の面積に対する発生個数ならびに面積の結果において、2%投与群において、発生個数、面積ともに有意な増加が見られ、ダンマル樹脂の高用量群では肝発がんの促進作用を示唆するものと考えられる。

病理組織学的検討で、F344 ラットと同様、2%投与群において、1 例に肝細胞癌が観察されたが、0%投与群と比較して有意差は認められなかった。また、甲状腺においては濾胞細胞過形成の平均発生個数において有意差はないものの、増加傾向が認められたが、その他の腫瘍性病変の促進作用は観察されなかった。

以上の肝臓の GST-P 陽性細胞巢の肝臓切片全体の面積に対する発生個数ならびに面積の結果および病理組織学的検討を併せて考察すると、*gpt delta* ラットでは、F344 ラットと同様、ダンマル樹脂の高用量群における肝臓に対する発がん促進作用を有する可能性が示唆されたが、甲状腺に対しては明らかではないと考えられる。

E. 結論

ダンマル樹脂による発がん修飾作用の有無について、*gpt delta* ラットを用いて検討している。動物は 5 週齢の雄 *gpt delta* ラットを用い、3 群に分け、全群に発がんイニシエーション目的に DMBDD 処置を行った。実験開始第 5 週目より、1~3 群にダンマル樹脂をそれぞれ 0%、0.03%、2% の濃度で基礎飼料中に混じて経口投与させた。いずれの群も実験開始後 32 週目で屠殺剖検し、血液生化学的検査ならびに肝臓、甲状腺の病理組織学的検索を行った。最終体重において、各群間で有意差が認められたが、F344 ラットと同様の変化を示した。2%投与

群においては、血液学的検査、血清生化学的検査において軽微な増減は認められたが、毒性学的変化として考えられるものではなかった。また、肝臓の絶対重量、相対重量ともに有意な増加が認められ、GST-P 陽性細胞巢の肝臓切片全体の面積に対する面積および発生個数で有意な増加が認められ、0%投与群と比較したときの増加率は *gpt delta* ラットのほうが高かった。病理組織学的検討では、肝臓における Foci (area) of cellular alteration および肝細胞癌の発生頻度では有意差は認められず、F344 ラットにおいて有意差が認められた甲状腺における濾胞細胞過形成の発生個数でも有意差は認められなかったが、用量依存性に増加傾向を示していた。さらにその他の臓器の病理組織学的検索を行い、最終的なダンマル樹脂の *gpt delta* ラットでの発がん修飾作用の検討を行う予定である。現在の結果より、ダンマル樹脂は F344 ラットと同様に肝臓を標的とする発がん性が示唆された。また、F344 を background とした *gpt delta* ラットは、F344 ラットと比較して、腫瘍の感受性がわずかながら異なることが示唆された。*gpt delta* ラットは、被験物質による変異原性の有無を各臓器ごとに検討できるだけでなく、同時に、発がん性、発がん修飾作用の検討にも応用可能であると考えられた。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

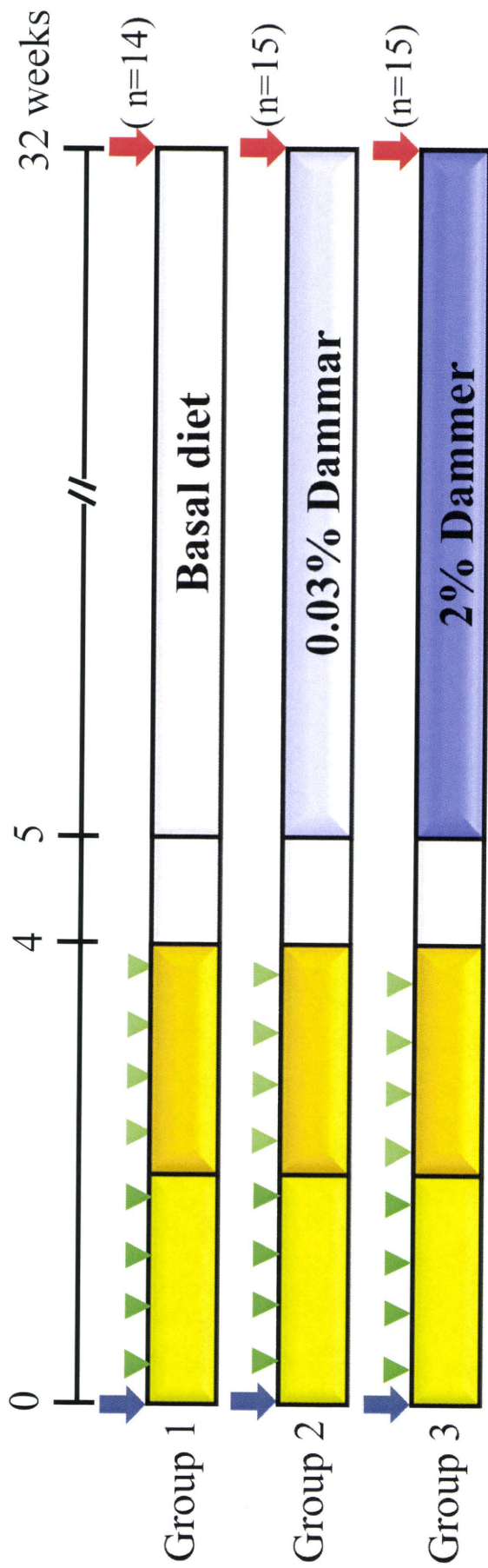
1. Yachida S, Imaida K, Yokohira M, Hashimoto N, Suzuki S, Okano K, Wakabayashi H, Maeta H, Suzuki Y. Jun activation domain binding protein 1 is overexpressed from the very early stages of hepatocarcinogenesis. *Surgical Oncol.* 17: 3386-3393, 2010.
2. Kohno M, Haramoto M, Nakajima O, Yang L, Hinotsu S, Yokohira M, Imaida K, Kawakami K. Antedrug budesonide by intrapulmonary treatment attenuates bleomycin-induced lung injury in rats with minimal systemic adverse effects. *Biol. Pharm. Bull.*, 33:1206-1211, 2010.
3. Imaida K, Yokohira M, Hashimoto N, Kuno T. Risk analysis of environmental chemicals on lung carcinogenesis. *Asian Pacific J Cancer Prev*, 11: 9-12, 2010.

4. Yokohira M, Hashimoto N, Yamakawa K, Suzuki S, Saoo K, Kuno T, Imaida K. Potassium octatitanate fibers (TISMO) induce pleural mesothelial cell reactions with iron accumulation in female A/J mice. *Oncol. Lett.*, 1: 273-278, 2010.
 5. Tsuda H, Futakuchi M, Fukamachi K, Shirai T, Imaida K, Fukushima S, Tatematsu M, Furukawa F, Tamano S, Ito N. A medium-term, rapid rat bioassay model for the detection of carcinogenic potential of chemicals. *Toxicol Pathol.*, 38: 182-187, 2010.
 6. Kuno T, Hirose Y, Yamada Y, Imaida K, Tatematsu K, Mori Y, Mori H. Chemoprevention of 1,2-dimethylhydrazine-induced colonic preneoplastic lesions in Fischer rats by 6-methylsulfinylhexyl isothiocyanate, a wasabi derivative. *Oncology Letters*, 1: 273-278, 2010.
 7. Yamakawa K, Kuno T, Hashimoto N, Yokohira M, Suzuki S, Nakano Y, Saoo K, Imaida, K. Molecular analysis of carcinogen induced rodent lung tumors-Involvement of microRNA expression and Kras or EGFR mutation. *Molecular Medicine Reports*, 3: 141-147, 2010.
 8. Takeuchi H, Saoo K, Yamakawa K, Matsuda Y, Yokohira M, Zeng Y, Kuno T, Totsuka Y, Takahashi M, Wakabayashi K and Imaida K. Tumorigenesis of 2-Amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx), but not enhancing effects of concomitant high fat diet, on lung carcinogenesis in female A/J mice. *Oncol. Lett.*, 1: 137-142, 2010.
 9. Suzuki S, Yokohira M, Hashimoto N, Saoo K, Matsuda Y, Yamakawa K, Nakano Y, Kuno T, Imaida K. Different threshold levels for 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx) initiation of lung and colon carcinogenesis and the effects of an additional initiation by 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) in A/J mice. *Molecular Medicine Reports*, 3: 301-307, 2010.
 10. Yokohira M, Hashimoto N, Yamakawa K, Saoo K, Kuno T, Imaida K. Lack of promoting effects from physical pulmonary collapse in a female A/J mouse lung tumor initiated with 4-(methyl-nitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) with remarkable mesothelial cell reactions in the thoracic cavity by the polymer. *Exp. Toxicol. Pathol.*, 63: 181-185, 2011
2. 学会発表
1. 鬼松幸子、船本康申、平口貴子、三谷由香利、山川けいこ、横平政直、今井田克己、大森正樹、竿尾光祐、術中迅速診断時に細胞診が有用であった angiomatous meningioma の一例, 第 49 回日本臨床細胞学会秋季大会, 神戸 (2010.11)
 2. Toshiya Kuno, Masanao Yokohira, Satoshi Suzuki, Nozomi Hashimoto, Keiko Yamakawa, Yuko Nakano, Kousuke Saoo, Akira Hara, Katsumi Imaida, Modyfying effects of PPAR gamma agonist, Troglitazone in the chemically-induced lung tumorigenesis in A/J female mice, 69th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association (2010.9)
 3. Masanao Yokohira, Shugo Suzuki, Katsumi Imaida, Samuel M. Cohen, 69th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association (2010.9)
 4. Yuko Nakano, Nozomi Hashimoto, Masanao Yokohira, Keiko Yamakawa, Toshiya Kuno, Satoshi Suzuki, Kousuke Saoo, Tadao Shiooka, Katsumi Imaida, Effect of chronic inflammation on DHPN lung carcinogenesis in F344 and SD rats, 69th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association (2010.9)
 5. 横平政直、山川けいこ、二宮芙美子、中野裕子、井上達史、竿尾光祐、今井田克己、Wistar-Hannover GALAS ラットを用いた慢性毒性ならびに長期発がん性評価(キダチアロエ), 第 27 回日本毒性病理学会総会 (2011.1)
 6. 中野裕子、横平政直、橋本希、山川けいこ、井上達史、二宮芙美子、竿尾光祐、今井田克己、ラット気管内投与による nicotine の毒性作用の検討, 第 27 回日本毒性病理学会総会 (2011.1)
 7. Masanao Yokohira, Lora L. Arnold, Karen L. Pennington, Shugo Suzuki, Satoko Kakiuchi-Kiyota, Karen Herbin-Davis,

David J. Thomas, Katsumi Imaida, Samuel M. Cohen, Severe urinary bladder cytotoxicity and regenerative hyperplasia with dose response induced by arsenite in arsenic (+3 oxidation state) methyltransferase knockout mice, 50th Anniversary Annual Meeting & ToxExpo (2011.3)

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし



◆ Animals : 6-week-old, 45 male gpt delta rats

◆ Test chemical : Dammar in the diet

◆ Basal diet : MF

◆ Treatment

→ DEN: 100 mg/kg body weight, i.p., single dose, at day 0.

▼ MNU: 20 mg/kg body weight, i.p., 4 times, during weeks 1 and 2.

■ BBN: 0.05% in the drinking water, during weeks 1 and 2.

▼ DMH: 40 mg/kg body weight, s.c., 4 times, during weeks 3 and 4.

■ DHPN: 0.1% in the drinking water, during weeks 3 and 4.

→ : Sacrifice

Group	Dammar Resin	Number of rats
1	0 %	15→14(麻醉時)
2	0.03 %	15→15
3	2 %	15→15

Fig.1 Experimental Design

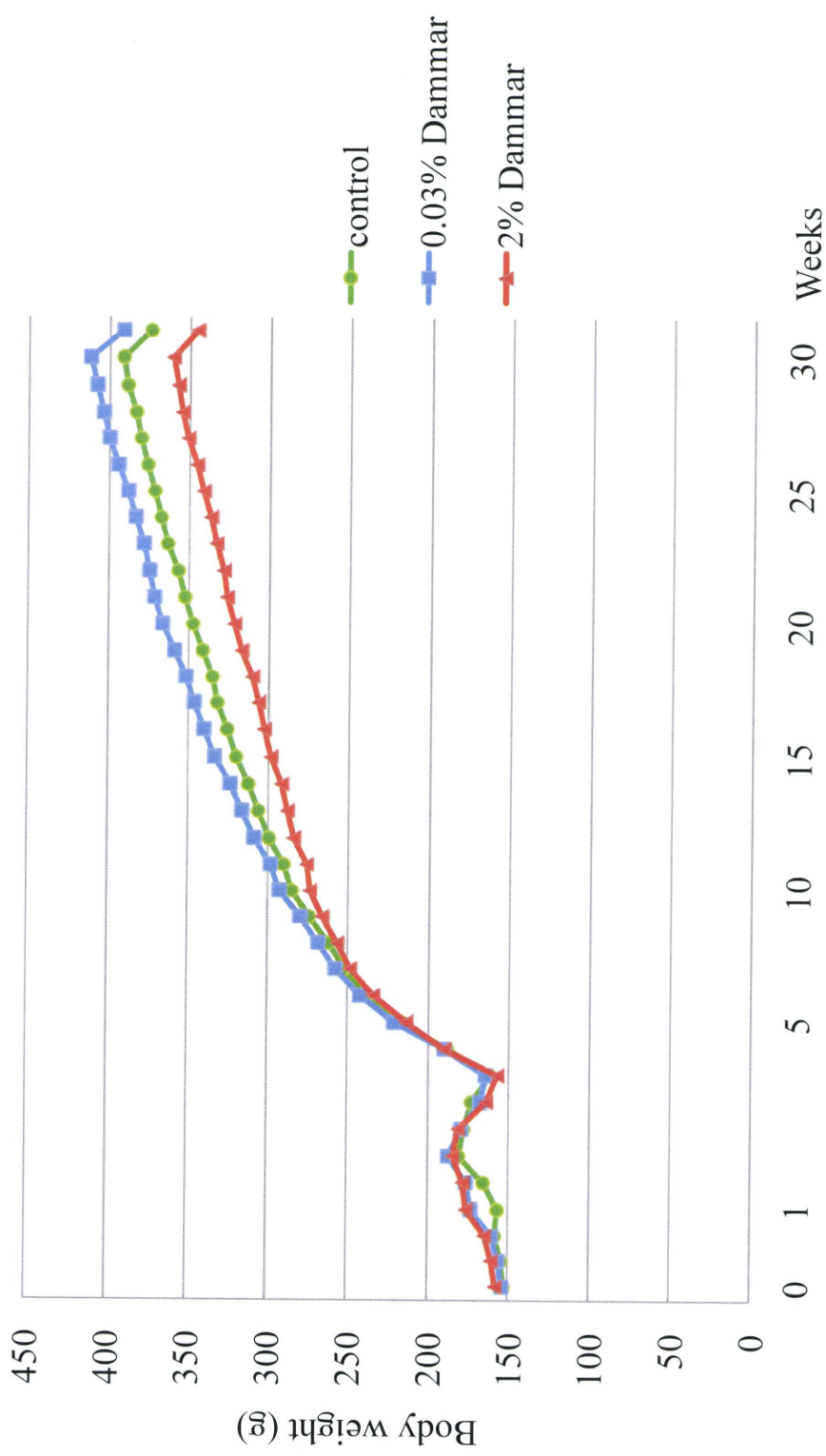


Fig.2 Body Weight Curves

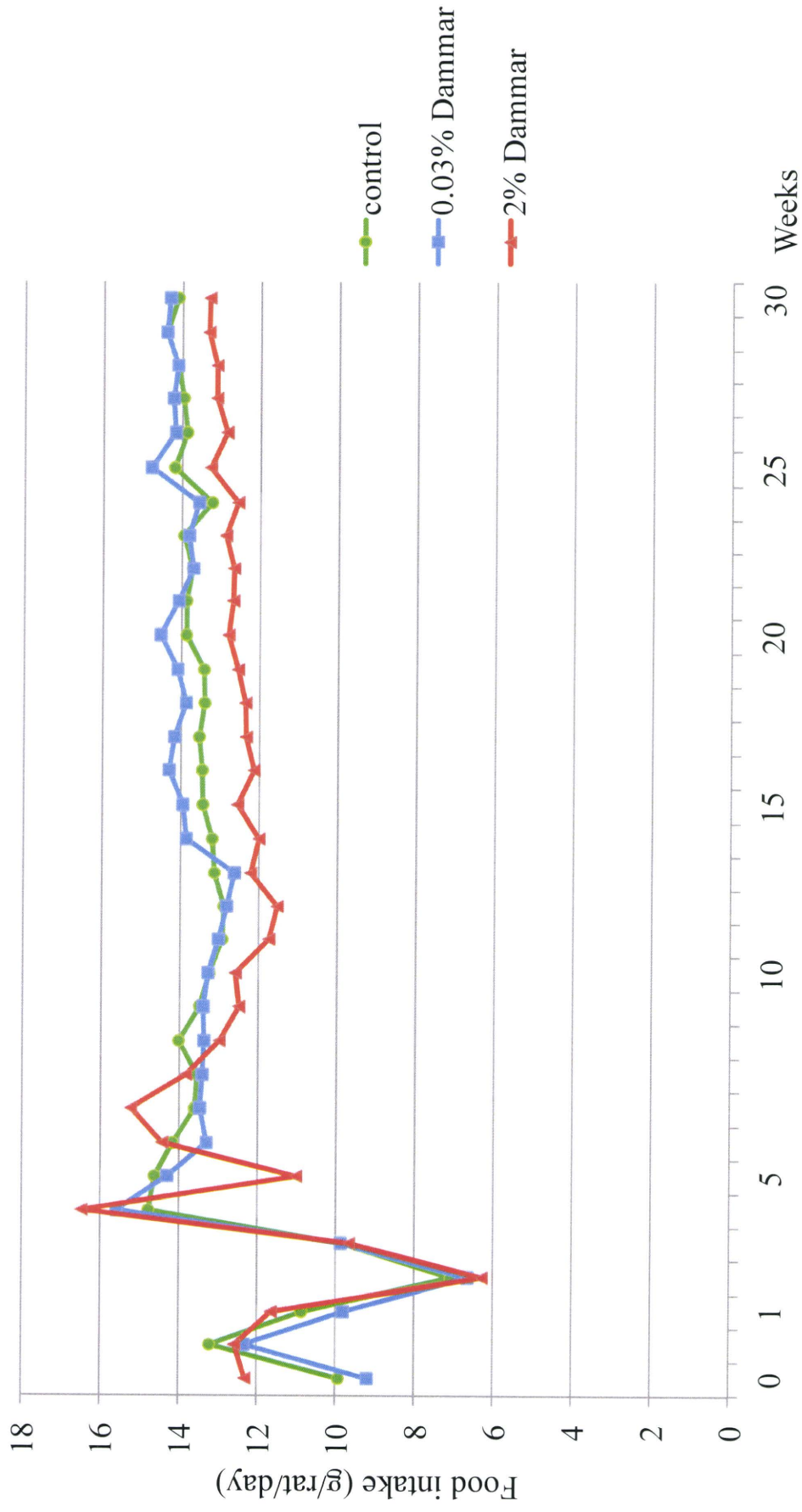


Fig.3 Food consumptions

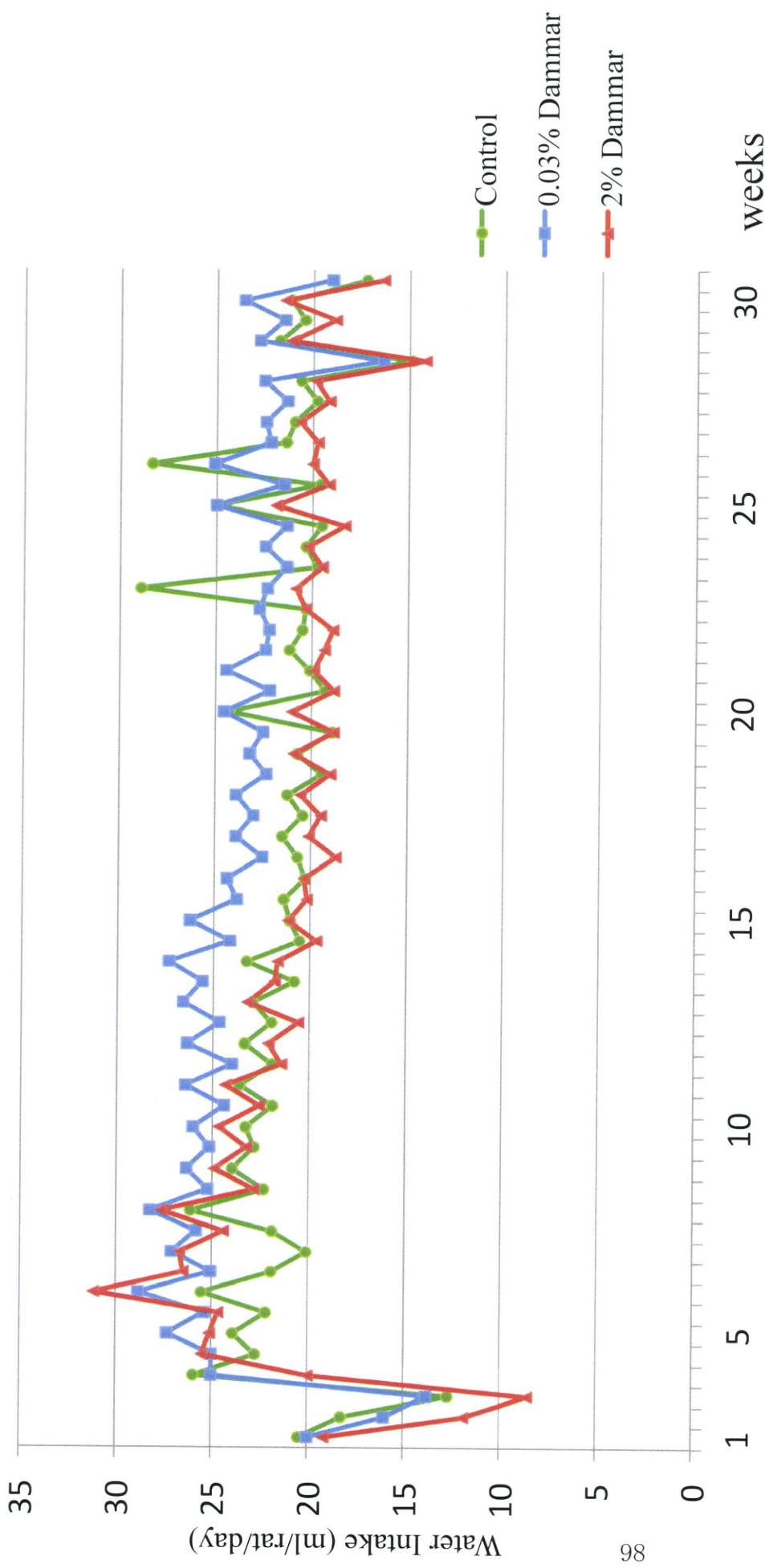


Fig. 4 Water Intake (ml/rat/day)