

(倫理面への配慮)

本研究はバクテリアの DNA 塩基配列の決定とそのデータ解析なので配慮の対象ではない。

C. 研究結果

1) 突然変異の数

YG2250 の親株である AB1157 のゲノムの配列は参照配列とは異なることが昨年の研究結果で明らかになった。今年度も、4 検体について、AB1157 と共通した配列であった場合は、変異とみなさず削除した。さらに、YG2250 が培養開始時点で持っていたと考えられる変異も削除したところ、4 検体全部で 88 か所に変異が確認された。1、4、8、12 週めのそれぞれで見つかった変異の数は、順に 34、41、51、50 個で、増加傾向にあった (表 1)。

表 1 突然変異のスペクトラム一覧

	1 週間	4 週間	8 週間	12 週間
塩基置換				
GC to AT	3	4	5	3
GC to CG	1	0	0	1
GC to TA	8	18	21	25
AT to CG	1	2	1	1
AT to GC	1	0	0	2
AT to TA	1	1	1	0
挿入				
1 bp	16	16	15	16
+A	2	0	0	2
+C	1	4	4	4
+G	12	12	10	9
+T	1	0	2	1
≥2 bp	1	0	2	2
欠失				
1 bp	0	0	0	0
≥2 bp	2	0	5	0
total	34	41	51	50

2) 変異スペクトラム

検体間で共通の突然変異を 1 個と計数して、4 検体全部で 88 個の変異が見つかり (前述)、そのうち塩基置換は 47 個だった。G:C 塩基対からの変異が 41 個と大半を占めた。最も多かったのは G:C から T:A へのトランスバージョン (34 個) で、塩基置換の 70% を占めた。残りの 41 個は挿入または欠失で、挿入は 34 個のうち 29 個が 1 塩基 (うち 80% が G または C) の挿入であるのに対して、欠失は 7 個全部が 2 塩基以上の欠失であった。

突然変異のスペクトラムの推移をみると、塩基置換は継時的に増加する傾向にあったが、挿入/欠失は 1 週間後も 12 週間後も変わらなかった。増えている塩基置換は GC から TA への変化で、これは菌株の性質を反映していた。挿入は 1 塩基が、欠失はそれよりも長いものが 9 割以上を占めた。

変異の蓄積という観点から見た場合、1 週目で生じた変異が 12 週目まで観察されている数は 12 個、4 週めからのものは 7 個、8 週めからのものは 7 個だった。一方、それぞれのサンプルのみに観察された変異の数は、1 週めから順に 7、6、15、9 個だった。残りの 22 個 (約 4 分の 1) は 1 週めから 8 週目まで同じ変異が見つかったが、それが 12 週めには消えている、4 週目と 8 週目だけに見られるなどの変異である。

3) 変異の分布の特徴

遺伝子の中にある変異が 80% を占めた (88 個中 70 個)。そのうち 18 個は y-gene (機能未知の ORF) であった。70 個のうちミスセンス変異とナンセンス変異の割合は同等だった。7 個の遺伝子、*lpsD grxB ycfN topA yeaY rpoD yhhS*、には複数の変異が見つかった。2 塩基以上の挿入/欠失は 1 検体のみに観察されたものであり、その後継続して観察されるものではなかった。

4) 変異頻度の推移

YG2250は変異頻度が高いミューテーター株なので、野生株に比べて高い変異頻度を示す。徐々に高くなるが(2-3、6-8、9-12週)、ある程度高くなると一旦下がる傾向が見られた(図1、2、5、9週目)。突然変異の頻度と見つかった変異の数には相関はないと思われる。

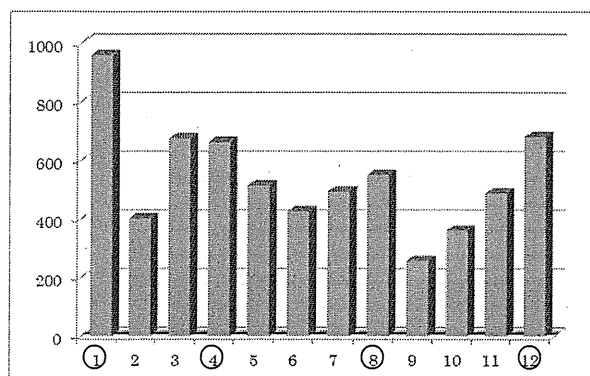


図1 変異頻度

横軸は植え継ぎ期間(単位は週)、縦軸は生菌数当たりのリファンピシン耐性コロニーの数(x 10⁻⁸)を示す。○は検体を調製した週。

D. 健康危機情報

省略

E. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) 山田雅巳、増村健一、能美健彦、次世代シーケンサーを用いた大腸菌ミューテーター株のゲノムに蓄積する突然変異の解析、第34回日本分子生物学会年会(2011.12)
- 2) 山田雅巳、酸化ヌクレオチドの取り込みによる突然変異に関するDNAポリメラーゼ、日本環境変異原学会第40回大会、シンポジウム1(2011.11)
- 3) 須井哉、川上久美子、奥富弘子、山田

雅巳、能美健彦、ハイ・スループット微生物遺伝毒性試験法の検討7、日本環境変異原学会第40回大会(2011.11)

- 4) 堀妃佐子、下吉里実、藤居互、増村健一、山田雅巳、F344系統gpt deltaラットを用いた突然変異試験と末梢血小核試験の統合法の検討、日本環境変異原学会第40回大会(2011.11)
- 5) 高木久宜、野崎祐次、河田昭彦、山田雅巳、増村健一、能美健彦、F344系gpt deltaラットの6ヶ月飼育試験による背景データの取得、日本環境変異原学会第40回大会(2011.11)
- 6) 本山茂記、竹入章、和田直子、寺社下浩一、三島雅之、新見直子、Petr Grúz、増村健一、山田雅巳、能美健彦、MitomycinCによるDNA二本鎖切断の誘発に対するDNA polymerase κ の役割、日本環境変異原学会第40回大会(2011.11)

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 無し
2. 実用新案登録 無し
3. その他 無し

表2 観察された突然変異の一覧

Pos.	ref	1 week	4 weeks	8 weeks	12 weeks	gene	aa_Len	pos.aa
66531	C			M	M	<i>argD</i>	231	7
75070	*	*/+G	*/+G	*/+G	*/+G	<i>tdpA</i>	327	
111616	C		M		M			
126249	*			*/- GCACCTGGGG CCGGTAAACAG GAA		<i>aceF</i>	630	
193483	*	*/+G	*/+G	*/+G	*/+G			
201742	*	*/+G				<i>gnd</i>	341	
201743	*		*/+C	*/+C	*/+C	<i>gnd</i>	341	
255892	T		G					
270810	T	C			C	<i>msl</i>	393	398
270987	C			T				
283768	*			*/- TCGGTGTCAA GGCCACGBCG		<i>mapF</i>	655	
479469	C	M		M		<i>lba</i>	72	22
493763	*	*/- GGGCTCAGCC GGGCGA				<i>recP</i>	201	
524904	C			M		<i>chsD</i>	1426	807
845976	*	*/+G		*/+G	*/+G	<i>cdg</i>	292	
676439	*			-AG/-AG		<i>ybcG</i>	325	
688265	C	G			G			
688266	C				T			
756580	G				K	<i>sdhA</i>	588	84
759010	*	*/+T		*/+T				
759012	*		*/+G		*/+G			
775725	G			K	K	<i>tdg</i>	230	51
811120	C	M		M	M	<i>hcrF</i>	384	106
836330	+			*/+GGG		<i>yhbF</i>	320	
900824	C		M	M	M	<i>arlJ</i>	243	58
943880	C		M		M	<i>chmB</i>	205	15
1002105	*		*/+G	*/+G	*/+G	<i>wcbS</i>	666	
1119984	C			M		<i>yceI</i>	491	24
1125398	*	*/+A			*/+A	<i>grxB</i>	215	
1125400	G		A	A		<i>grxB</i>	215	16
1125401	T		G	G		<i>grxB</i>	215	77
1164938	*	*/+G				<i>yglN</i>	274	
1164942	+		*/+G			<i>yglN</i>	274	
1203125	A	M			C	<i>yuhI</i>	113	18
1225577	*	*/+G	*/+G	*/+G				
1226902	C				M	<i>mmJ</i>	210	13
1273395	+	*/+G	*/+G	*/+G	*/+G	<i>chsA</i>	366	
1282800	C		M			<i>swrG</i>	1247	454
1329866	C	M				<i>brkF</i>	196	136
1332772	*				*/+A	<i>topA</i>	865	
1332773	T	A	A	A		<i>topA</i>	865	4
1332774	C	T	T	T		<i>topA</i>	865	5
1351618	G		K		K	<i>ycaW</i>	375	68
1366300	G	K	K	K	K	<i>puuI</i>	426	119
1436672	C	T	T	T	T			
1448070	C			M	M	<i>ydhH</i>	879	436
1465882	C		M	M	M	<i>trpA</i>	1281	351
1611076	G	K	K		K	<i>uagB</i>	483	440
1663585	*			*/- CGGTCAAAGGA AGGCCATCAGG CCATTTGCCCA GTTCAAACGG		<i>ycaG</i>	80	
1885721	G		K		K	<i>ycaV</i>	491	274
1891704	*			*/+T	*/+T	<i>ycaY</i>	193	
1891706	*	*/+A				<i>ycaY</i>	193	
1907650	*			*/- ATGATTATTGA GGGTTTTGGTG CGCCAG		<i>ycaW</i>	185	
1980198	C	T	T	T	T			
2421334	C		M	M	M	<i>pta</i>	714	391
2471600	G		K			<i>ydcC</i>	310	285
2764067	*				-CCACTATG/+ GGACTATG			
2839291	*	*/+G	*/+G			<i>aceF</i>	485	
2851802	G	K	K	K	K	<i>trpD</i>	373	337
3027147	G	K	K		K			

表 2 続き

Pos.	ref	1 week	4 weeks	8 weeks	12 weeks	gene	aa_Len	pos.aa
3042893	C	.	.	M	M	<i>bgIA</i>	479	192
3130120	*	+CT/*	.	.	.	<i>yghQ</i>	355	.
3131998	*	*/- CAGTTGCGGC GTAACGGCGAT TTTTTCCTGTA ACGCTGC	.	.	.	<i>yghS</i>	237	.
3201190	G	K	K	K	K	<i>cca</i>	412	215
3212355	*	.	.	*/+C	.	<i>rpoD</i>	613	.
3212357	*	.	.	.	*/+C	<i>rpoD</i>	613	.
3231836	*	.	.	*/+G	.	<i>fadH</i>	672	.
3239632	G	.	.	K	.	<i>sstT</i>	414	345
3464778	*	.	.	*/+GGGGC
3475523	*	*/+G	*/+G	*/+G	*/+G	<i>fabR</i>	234	.
3520390	*	.	.	.	*/+GGGGC	<i>glpK</i>	502	.
3742936	A	.	.	.	G	.	.	.
3811637	G	.	.	K	K	.	.	.
3815483	G	.	K	.	.	<i>trmH</i>	229	140
3952099	*	.	*/+G	.	.	<i>bcsC</i>	1157	.
3986023	C	.	M	.	M	<i>slp</i>	188	144
4023064	*	*/+G	*/+G	*/+G	*/+G	<i>nikD</i>	254	.
4029622	*	*/+G	*/+G	.	.	<i>yhhS</i>	405	.
4029629	*	.	.	.	*/+G	<i>yhhS</i>	405	.
4085367	*	.	*/+C	.	.	<i>malT</i>	901	.
4115400	*	*/+C	*/+C	*/+C	*/+C	<i>mrcA</i>	850	.
4148399	*	.	.	*/+C	.	<i>ppiA</i>	190	.
4178951	C	.	.	M
4211130	C	.	M	M	M	<i>yrdA</i>	184	17
4283054	*	*/+G	*/+G	*/+G	*/+G	<i>yjcD</i>	449	.
4423392	C	.	.	M	M	<i>ulaG</i>	354	305
4547993	C	.	.	M	M	<i>fimA</i>	182	67
4549766	G	.	M	M	M	.	.	.

平成 23 年度 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）
分担研究報告書

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

分担研究課題名：食品中変異原のDNA損傷の測定と、修復メカニズムの解明
分担研究者： 松田知成 京都大学工学研究科 准教授

研究要旨

食品中にも含まれうるニトロソアミンなどが引き起こす DNA のアルキル化損傷は、ミスマッチ修復依存的にアポトーシスを誘導することがわかっているが、そのメカニズムはよくわかっていない。そこでメカニズム解明の手掛かりを見つけるため、ミスマッチ修復関連酵素 MLH1 のタンパク質複合体解析を行った。その結果、DNA 修復、細胞周期、アポトーシス、小胞輸送、染色体安定性に関与するタンパク質が多く同定された。MLH1 複合体は MNU の曝露により、細胞質でダイナミックに変化することがわかった。

キーワード： MLH1、ミスマッチ修復、タンパク質複合体、プロテオーム

A. 研究目的

食品中にも含まれうるニトロソアミンなどが引き起こす DNA のアルキル化損傷は、ミスマッチ修復依存的にアポトーシスを誘導することがわかっているが、そのメカニズムはよくわかっていない。アポトーシスの誘導は、細胞の突然変異の蓄積を防ぐうえで重要である。そこで本研究では、そのメカニズム解明の手掛かりを見つけるため、ミスマッチ修復関連酵素 MLH1 のタンパク質複合体解析を行った。

B. 研究方法

組換えレトロウイルスを用いて、N 末端に FLAG-HA タグをつないだ MLH1 を HeLa S3 細胞に安定発現させた。この細胞を 0.9 mM MNU に 24 時間曝露した後、アガロースビーズに結合した抗 FLAG M2 抗体を用いて、核、細胞質の抽出物から、MLH1 複合体を免疫沈降

し、FLAG ペプチドで溶出した。SDS-PAGE で MLH1 複合体の構成タンパク質を分離し、バンドごとに切り出した。ゲル内トリプシン消化後、生成したペプチド断片を C18 StageTip を用いて、脱塩、濃縮し、nanoLC-ESI-Q-Tof 型質量分析計を用いて、MS/MS スペクトルを測定した。得られたデータを Mascot、及び Human MS International Protein index protein sequence database version 3.53 を用いて、解析し、タンパク質を同定した。

C. 研究結果

核および細胞質の MLH1 複合体の SDS-PAGE の結果を図 1 に示す。MLH1 とそのパートナーの PMS2 はクマシー染色で明瞭なバンドとして確認できた。図-1 より、MNU 曝露により、細胞質内の MLH1 複合体の構成は、ダイナミックに変化することが示

唆されたので、引き続き、ブルーネイティブ SDS-PAGE 解析により複合体の構成を解析した (図 2)。

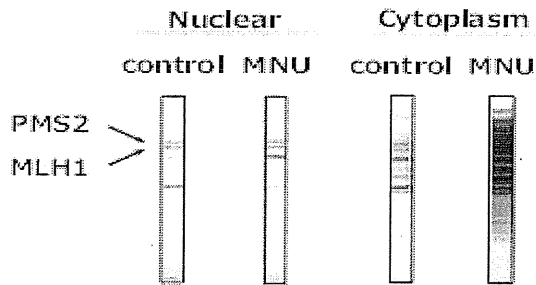


図 1 MLH1 複合体の SDS-PAGE

まず、複合体をブルーネイティブ PAGE で電気泳動した。この分離では、複合体の構造を壊すことなく、複合体の大きさで分離することができる。泳動したレーンを切り取り、通常の SDS-PAGE で 2 次元展開した。MNU の曝露により、細胞質で大きなタンパク質複合体が形成されているのが確認できた。

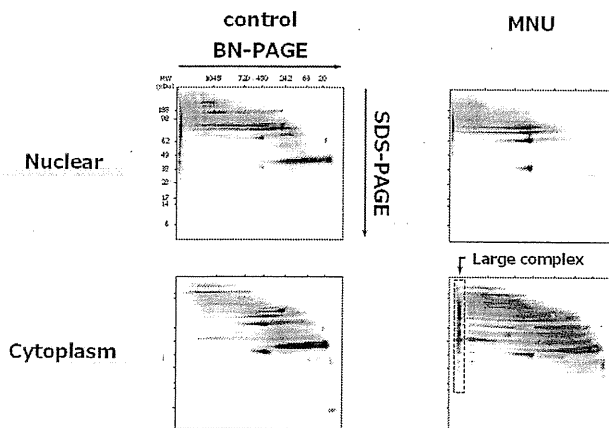


図 2 MLH1 複合体のブルーネイティブ SDS-PAGE

プロテオーム解析の結果、核内の MLH1 複合体からは、BRCA1 や FANCD1、MSH2、MSH6 などの DNA 修復酵素が多数同定された。一方、細胞質内の MLH1 複合体からは、Cdc2 や CDK2、PA2G4 などの細胞周期に関わるタンパク質、BAX や CASP9、NFκB2 などのアポトーシスに関わるタンパク質が多数同定された。AP2B1 や CLTC などの小胞輸送に関わ

るタンパク質は、核、細胞質内共に多数同定されたが、NuMA や Rae1、TPX2 のような染色体の安定性に関わるタンパク質は、MNU 曝露時に限って同定された。

表 1 MLH1 複合体として同定されたタンパク質

Role	Nuclear	Cytoplasm
DNA repair	MSH2, PMS2, BRCA1, FANCD2, MSH6	PMS2, MSH6
Cell cycle	CCAR1	CDKN2A, PA2G4, BUB1B, CCNB1, Cdc2, CDK2, CDK4, CDK6, APC, MAD2L1, PCNA
apoptosis	API5	API5, BAX, PAWR, CASP2, CASP9, NFκB2, BCL2L2
Vesicular transport	CLTC, CLTCL1, AP1B1, AP2A1, AP2A2, AP2B1, AP2S1, AP2M1	CLTCL1, AP2B1, COPA, COPB2, COPE, SEC31A, SEC24C, AP2A1 ...
chromosomal stability	NUMA, TPX2	CENPM, Ndc80, Rae1

D. 考 察

MNU の曝露により DNA 損傷が起こると、MLH1 の一部は、核から細胞質に移行し、細胞周期やアポトーシスに関連する多様な複合体を形成することが示唆された。もしかしたら、MLH1 が DNA 損傷を感知し、細胞質にその情報を伝える伝令役を担っているのかもしれない。

E. 結 論

ミスマッチ修復酵素 MLH1 のタンパク質複合体解析を行った。その結果、DNA 修復、細胞周期、アポトーシス、小胞輸送、染色体安定性に関与するタンパク質が多く同定された。MLH1 複合体は MNU の曝露により、細胞質でダイナミックに変化することがわかった。今後は、より詳細な解析を行い DNA 損傷によるアポトーシス誘発のメカニズムを明らかにしてゆく。今後、DNA 損傷によるアポトーシス経路の解明がすすめば、閾値形成におけるアポトーシスの役割がわかってくると思われる。

F. 健康危機情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- [1] Sugimura, H., Tao, H., Suzuki, M., Mori, H., Tsuboi, M., Matsuura, S., Goto, M., Shinmura, K., Ozawa, T., Tanioka, F., Sato, N., Matsushima, Y., Kageyama, S., Funai, K., Chou, P. H., and Matsuda, T. (2011) Genetic susceptibility to lung cancer, *Front Biosci (Schol Ed)* 3, 1463-1477.
- [2] Shinmura, K., Goto, M., Suzuki, M., Tao, H., Yamada, H., Igarashi, H., Matsuura, S., Maeda, M., Konno, H., Matsuda, T., and Sugimura, H. (2011) Reduced expression of MUTYH with suppressive activity against mutations caused by 8-hydroxyguanine is a novel predictor of a poor prognosis in human gastric cancer, *J Pathol* 225, 414-423.
- [3] Matsuda, S., Matsui, S., Shimizu, Y., and Matsuda, T. (2011) Genotoxicity of colloidal fullerene c(60), *Environ Sci Technol* 45, 4133-4138.
- [4] Koyama, N., Yasui, M., Kimura, A., Takami, S., Suzuki, T., Masumura, K., Nohmi, T., Masuda, S., Kinae, N., Matsuda, T., Imai, T., and Honma, M. (2011) Acrylamide genotoxicity in young versus adult gpt delta male rats, *Mutagenesis* 26, 545-549.
- [5] Kato, K., Yamamura, E., Kawanishi, M., Yagi, T., Matsuda, T., Sugiyama, A., and Uno, Y. (2011) Application of the DNA adductome approach to assess the DNA-damaging capability of in vitro micronucleus test-positive compounds, *Mutat Res* 721, 21-26.
- ### 2. 学会発表
- [1] 竹内 智規, 松田 俊, 足立 淳, 服部 友美, 井倉 正枝, 井倉 毅, 松田 知成. (2011) BN/SDS-PAGE を用いた MLH1 複合体の解析, In 日本環境変異原学会 (JEMS) 第 40 回大会, p 136, 東京.
- [2] 宋 明芬, 李 云善, 河井 一明, 松田 知成, 葛西 宏. (2011) フリーラジカル機構を介した発がんプロモーター cumene hydroperoxide によるマウス皮膚 DNA のメチル化, In 第 70 回 日本癌学会学術総会, p 477, 名古屋.
- [3] 石野 孔祐, 加藤 竜也, 松田 知成, 戸塚 ゆ加里, 中釜 斉. (2011) ナノマテリアルによりマウス肺に誘発される DNA 付加体の網羅的解析, In 日本環境変異原学会 (JEMS) 第 40 回大会, p 95, 東京.
- [4] 新村 和也, 五十嵐 久喜, 後藤 正憲, 陶 弘, 山田 英孝, 松浦 駿, 松田 知成, 小川 博, 梶村 春彦. (2011) ヒト肺癌における脱アミノ化酵素 AID の異常発現と変異誘導性, In 第 70 回 日本癌学会学術総会, p 480, 名古屋.
- [5] 松田 俊, 足立 淳, 井原 賢, 田沼 延公, 島 礼, 井倉 正枝, 井倉 毅, 松田 知成. (2011) ピルビン酸キナーゼ PKM2 とダイオキシン受容体 AhR の相互作用の機能解明, In 日本環境変異原学会 (JEMS) 第 40 回大会, p 143, 東京.
- [6] 小山 倫浩, 余 旭勝, 辻 真弓, 田中 政幸, 松田 知成, 浦本 秀隆, 田中 文啓, 川本 俊弘. (2011) エタノール摂取によるアルデヒド脱水素酵素 2 ノックアウトマウスの体重変動と生存率, In 第 70 回 日本癌学会学術総会, p 158, 名古屋.
- [7] 加藤 杏子, 山田 勉也, 武藤 重治, 山村 英二, 松田 知成, 杉山 明男. (2011) ラ

ットを用いた骨髄小核試験における DNA ア
ダクトーム解析, In 日本環境変異原学会
(JEMS) 第 40 回大会, p 96, 東京.

- [8] 安井 学, 佐々 彰, 鴨下 渚, 松田 知成,
太田 敏博, 能美 健彦, 本間 正充.
(2011) 8-クロログアニン DNA 付加体を

含むオリゴマーの構築とその誤塩基対形成
機構に関する研究, In 日本環境変異原学
会 (JEMS) 第 40 回大会, p 93, 東京.

G. 知的所有権の取得状況
特になし

別紙 4

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
A. Furuhashi, K. Hasunuma, Y. Aoki, Y. Yoshioka and H. Shiraishi	Application of chemical reaction mechanistic domains to an ecotoxicity QSAR model, the KASHINHO Tool for Ecotoxicity (KATE)	SAR QSAR Environ. Res.	22	505-523	2011
J. Kawahara, C. Tanaka, C. Tanaka, Y. Aoki and J. Yonemoto	Estimation of daily inhalation rate in preschool children using a tri-axial accelerometer: a pilot study	Sci. Total Environ.	409	3073- 3077	2011
青木康展	改正「化審法」の施行	ファルマシア	47	895-870	2011
T.-H. Lim, R. Fujikane, S. Sano, R. Sakagami, Y. Nakatsu, T. Tsuzuki, M. Sekiguchi and A. Hidaka	Activation of AMP-activated protein kinase by MAP01 and FLCN induces apoptosis triggered by alkylated base mismatch in DNA	DNA Repair	11	259-266	2012
T. Tsuzuki, J, Piao, T. Isoda, K. Sakumi, Y. Nakabeppu and Y. Nakatsu	Oxidative stress-induced tumorigenesis in the small intestine of various types of DNA repair-deficient mice	Health Physics	100	293-294	2011
大野みずき, 續輝久	DNA 修復酵素遺伝子-酸化的 DNA 損傷の修復系を中心と して-	疾患モデルマウ ス表現型解析指 南-標準解析から 専門解析まで		pp. 339-345, pp. 466-467	2011
T. Kamigaito, T. Noguchi, K. Narumi, R. Takashima, S. Hamada, H. Sanada,	Evaluation of the <i>in vivo</i> mutagenicity of nickel subsulfide in the lung of F344 gpt delta transgenic	Genes and Environ.	34	18-24	2012

M. Hasuko, H. Hayashi, K. Masumura and <u>T. Nohmi</u>	rats exposed by intratracheal instillation: A collaborative study for the <i>gpt</i> delta transgenic rat mutation assay				
H. Sui, R. Ohta, T. Shiragiku, A. Akahori, K. Suzuki, M. Nakajima, H. Hayashi, K. Masumura and <u>T. Nohmi</u>	Evaluation of <i>in vivo</i> mutagenicity by 2,4-diaminotoluene and 2,6-diaminotoluene in liver of F344 <i>gpt</i> delta transgenic rat dosed for 28 days: a collaborative study of the <i>gpt</i> delta transgenic rat mutation assay	Genes and Environ.	34	25-33	2012
Y. Kawamura, H. Hayashi, O. Tajima, S. Yamada, T. Takayanagi, H. Hori, W. Fujii, K. Masumura and <u>T. Nohmi</u>	Evaluation of the genotoxicity of aristolochic acid in the kidney and liver of F344 <i>gpt</i> delta transgenic rat using a 28-day repeated-dose protocol: a collaborative study of the <i>gpt</i> delta transgenic rat mutation assay	Genes and Environ.	34	34-44	2012
M. Jin, A. Kijima, Y. Suzuki, D. Hibi, T. Inoue, Y. Ishii, <u>T. Nohmi</u> , A. Nishikawa, K. Ogawa and T. Umemura M.	Comprehensive toxicity study of safrole using a medium-term animal model with <i>gpt</i> delta rats	Toxicol.	290	312-321	2011
N. Toyoda-Hokaiwadoi, Y. Yasui, M. Takamune, <u>M. Yamada</u> , M. Muramatsu, K. Masumura, M., T. Ohta, T. Tanaka and <u>T. Nohmi</u>	Modulatory effects of capsaicin on N-diethylnitrosamine (DEN)-induced mutagenesis in Salmonella typhimurium YG7108 and DEN-induced hepatocarcinogenesis in <i>gpt</i> delta transgenic rats	Genes and Environ.	33	160-166	2011

N. Toyoda-Hokaiwadoi, Y. Yasui, M. Muramatsu, K. Masumura, M. Takamune, <u>M. Yamada</u> , T. Ohta, T. Tanaka and <u>T. Nohmi</u>	Chemopreventive effects of silymarin against 1,2-dimethylhydrazine plus dextran sodium sulfate-induced inflammation-associated carcinogenicity and genotoxicity in the colon of <i>gpt</i> delta rats	Carcinogenesis	32	1512-1517	2011
D. Hibi, Y. Suzuki, Y. Ishii, M. Jin, M. Watanabe, Y. Sugita-Konishi, T. Yanai, <u>T. Nohmi</u> , A. Nishikawa and T. Umemura	Site-specific in vivo mutagenicity in the kidney of <i>gpt</i> delta rats given a carcinogenic dose of ochratoxin A,	Toxicol. Sci.	122	406-414	2011
A. Yamamoto, Y. Sakamoto, K. Masumura, M. Honma and <u>T. Nohmi</u>	Involvement of mismatch repair proteins in adaptive responses induced by <i>N</i> -methyl- <i>N'</i> -nitro- <i>N</i> -nitrosoguanidine against γ -induced genotoxicity in human cells	Mutat. Res.	713	56-63	2011
N. Koyama, <u>M. Yasui</u> , A. Kimura, S. Takami, T. Suzuki, K. Masumura, <u>T. Nohmi</u> , S. Masuda, N. Kinae, T. Matsuda, T. Imai and M. Honma	Acrylamide genotoxicity in young versus adult <i>gpt</i> delta male rats	Mutagenesis	26	525-529	2011
A. Sassa, T. Ohta, <u>T. Nohmi</u> , M. Honma and <u>M. Yasui</u>	Mutational specificities of brominated DNA adducts catalyzed by human DNA polymerases	J. Mol. Boil.	406	679-686	2011
P. Hakulinen, A. Yamamoto, N. Koyama, W. Kumita, <u>M. Yasui</u> and M. Honma	Induction of TK mutations in human lymphoblastoid TK6 cells by the rat carcinogen 3-chloro-4-(dichlorometh	Mutat. Res.	725	43-49	2011

	yl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone. (MX)				
H. Sugimura, H. Tao, M. Suzuki, H. Mori, M. Tsuboi, S. Matsuura, M. Goto, K. Shinmura, T. Ozawa, F. Tanioka, N. Sato, Y. Matsushima, S. Kageyama, K. Funai, P.H. Chou and <u>T. Matsuda</u>	Genetic susceptibility to lung cancer	Front Biosci (Schol Ed)	3	1463-1477	2011
K. Shinmura, M. Goto, M. Suzuki, H. Tao, H. Yamada, H. Igarashi, S. Matsuura, M. Maeda, H. Konno, <u>T. Matsuda</u> and H. Sugimura	Reduced expression of MUTYH with suppressive activity against mutations caused by 8-hydroxyguanine is a novel predictor of a poor prognosis in human gastric cancer	J Pathol	225	414-423	2011
S. Matsuda, S. Matsui, Y. Shimizu and <u>T. Matsuda</u>	Genotoxicity of colloidal fullerene C(60)	Environ Sci Technol	45	4133-4138	2011
K. Kato, E. Yamamura, M. Kawanishi, T. Yagi, <u>T. Matsuda</u> , A. Sugiyama and Y. Uno	Application of the DNA adductome approach to assess the DNA-damaging capability of in vitro micronucleus test-positive compounds	Mutat. Res.	721	21-26	2011

平成 23 年度厚生労働科学研究費補助金 食品の安全確保推進研究事業

第二回 遺伝毒性発がん物質の閾値に関する
国際シンポジウム

International Symposium on Genotoxic and Carcinogenic Thresholds

プログラム・抄録集
Program & Abstracts

2011 年 11 月 23 日 (水/祝) November 23, 2011

一橋記念講堂 Hitotsubashi Memorial Hall, Tokyo

Welcome to the 2nd International Symposium on Genotoxic and Carcinogenic Thresholds

Since the disaster at the Fukushima No. 1 nuclear power plant in March 2011, people became concerned about adverse effects of radiation, in particular those of low dose radiation strongly. The effects of radiation on chromosome DNA are events of probability, and thus it is thought that radiation poses cancer risk to humans even at very low doses. Likewise, genotoxic compounds, which interact with DNA and induce mutations, are assumed to have no thresholds for their action. These compounds are used to be called “radiomimetic compounds”. Hence, genotoxic carcinogens, which induce cancer via genotoxic mechanisms, are regulated based on a paradigm that they have no thresholds for the cancer risk. Recently, however, the paradigm has been challenged by research on analyzes of carcinogenicity and genotoxicity of chemicals at low doses. Organisms including humans possess various self-defense mechanisms, such as detoxication metabolism, DNA repair, error-free translesion DNA synthesis, and apoptosis etc., which may suppress genotoxicity of chemicals at low doses and reduce the mutation frequency to spontaneous levels. These self defense mechanisms may constitute “apparent” or “practical” thresholds for genotoxic carcinogens.

In this symposium, six and four experts of genotoxicity and chemical carcinogenicity are invited from inside and outside of Japan, respectively, to discuss genotoxicity and carcinogenicity at low doses and the regulatory policies. This symposium follows the precedent symposia “International symposium – threshold of carcinogenicity and genotoxicity” in Kobe in Japan in 2006, and “The 1st International symposium on genotoxic and carcinogenic threshold” in Tokyo in 2008. It is our hope that presentation and discussion in this symposium will be beneficial to all the participants.

Takehiko Nohmi Ph.D.

Meeting Co-chairperson

Head, Division of Genetics and Mutagenesis

National Institute of Health Sciences, Japan

はじめに「第二回 遺伝毒性発がん物質の閾値に関する国際シンポジウム」

本年(2011年)3月に起きた福島第一原子力発電所の事故以来、放射線のヒトに対する影響、特に低線量放射線の影響について強い関心が集まっています。放射線の染色体 DNA に対する影響は確率的事象であり、放射線はどのように低線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ます。同様に、DNA に作用して突然変異を起こす遺伝毒性物質の作用に閾値はないと考えられています。遺伝毒性物質は、かつては「放射線類似作用物質」と呼ばれていました。このため、遺伝毒性のメカニズムに基づいて発がん性を示す遺伝毒性発がん物質は、その発がんリスクに閾値はないというパラダイムに基づいて規制が行われています。しかし近年、低用量域での化学物質の発がん作用、遺伝毒性作用の解析研究から、「遺伝毒性発がん物質の作用に閾値はない」というパラダイムは挑戦を受けています。ヒトを含む生物には、さまざまな生体防御機構（例えば解毒代謝、DNA 修復、トランスリージョン DNA 合成、アポトーシス等）が備わっており、これらが化学物質の低用量域での遺伝毒性を抑制し、変異頻度を自然突然変異のレベルに減少させることが考えられます。こうしたメカニズムは、遺伝毒性発がん物質の「みかけの」あるいは「実質的な」閾値を形成するかもしれません。

本シンポジウムでは、遺伝毒性、化学発がん分野の専門家を日本国内から6名、国外から4名招べいし、低用量域での遺伝毒性作用、発がん作用と、行政的な規制のあり方について発表と討論を行います。このシンポジウムは、2006年3月に神戸で開催された国際シンポジウム「環境因子、特に遺伝毒性発がん物質の閾値：安全と安心の接点をめざして」、2008年7月に東京で開催された「第一回遺伝毒性発がん物質の閾値に関する国際シンポジウム」に続くものです。シンポジウムでの発表と討論の内容が、全ての参加者にとって有益なものとなることを願ってやみません。

能美健彦

シンポジウム世話人

国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部 部長

参加者へのご案内

1. 同時通訳について

シンポジウム期間中、日英同時通訳（双方向）を行なっております。

2. 質疑・討論について

質疑は、個別の発表終了後、挙手のうえ、場内のスタンドマイクでお願いいたします。ご質問等は、お名前とご所属を述べてから手短にご発言くださいますようお願いいたします。同時通訳は、質問に対しても行われます。皆様の活発なご発言、ご討論をお願いいたします。

3. 飲食・喫煙について

会場内での食事、喫煙、撮影、録音はご遠慮ください。喫煙場所は1階の入り口を入れてすぐの左手にございます。

4. クローク

用意してございません。お手回り品はご自身でお持ちください。

5. シンポジウム本部

講堂を出て左に進まれますと、案内板がいくつかございます。その指示に従ってお進みください。吹き抜け部分の向こう側にございます。

Program

The 2nd International Symposium on Genotoxic and Carcinogenic Thresholds

November 23, 2011
Hitotsubashi Memorial Hall
National Center of Sciences Building
Hitotsubashi 2-1-2, Chiyoda-ku, Tokyo 101-0003, Japan

9:50 Opening Address

Takehiko Nohmi (Meeting Co-chairperson)

10:00 – 12:00 Session 1

Chair: Shoji Fukushima & Samuel M. Cohen

10:00 Genotoxic thresholds: identification of mutations in vivo and mechanistic studies in vitro

Takehiko Nohmi (National Institute of Health Sciences, Japan)

10:30 Threshold of genotoxic carcinogens: it is central concerns of carcinogenic risk assessment

Shoji Fukushima (Japan Bioassay Research Center, Japan)

11:00 Lessons Learned From 40,000-Animal Cancer Dose-Response Studies

George S. Bailey (Oregon State University, U.S.A.)

11:30 Urinary Bladder Carcinogenesis by DNA Reactive and Non-Reactive Chemicals: Non-linearity's and Thresholds

Samuel M. Cohen (University of Nebraska Medical Center, U.S.A.)

12:00 – 13:30 Lunch

13:30 – 15:30 Session 2

Chair: Teruhisa Tsuzuki & Elmar Gocke

13:30 A threshold for the murine T-cell lymphoma induction by N-ethyl-N-nitrosourea and/or radiation

Shizuko Kakinuma (National Institute of Radiological Sciences, Japan)

14:00 Exposure to ethylating agents: Where do the thresholds for mutagenic/clastogenic effects arise?

Elmar Gocke (F. Hoffmann-La Roche Ltd., Switzerland)

14:30 Oxidative stress-induced tumorigenesis in the small intestine of Mutyh-deficient mice: the effect of low-level exposure to $KBrO_3$

Teruhisa Tsuzuki (Kyushu University, Japan)

15:00 How do thresholds for mutagenicity and clastogenicity arise for DNA damaging agents?

George E. Johnson (Swansea University, U.K.)

15:30 – 16:00 Coffee Break

16:00 – 17:30 **Session 3**

Chair: Yasunobu Aoki & George S. Bailey

16:00 Health risk assessment of air pollutants: Air pollutant genotoxicity and its enhancement on suppression of phase II drug-metabolizing enzymes

Yasuhobu Aoki (National Institute for Environmental Studies, Japan)

16:30 Toxicity testing strategy based on the concept of the threshold of toxicological concern (TTC)

Akihiko Hirose (National Institute of Health Sciences, Japan)

17:00 **Closing Remarks**

Shoji Fukushima (Meeting Co-chairperson)

第二回 遺伝毒性発がん物質の閾値に関する国際シンポジウム

平成23年11月23日(水・祝)

学術総合センター, 一橋記念講堂

9:50 世話人挨拶 (開会の辞)

能美 健彦

10:00 - 12:00 セッション 1

座長 福島 昭治, Samuel M. Cohen

10:00 Genotoxic thresholds: the underlying mechanisms in vitro and in vivo

能美 健彦 (国立医薬品食品衛生研究所・変異遺伝部)

10:30 Threshold of genotoxic carcinogens: it is central concerns of carcinogenic risk assessment

福島 昭治 (日本バイオアッセイ研究センター)

11:00 Cancer and biomarker response at ultra-low carcinogen dose: A 42,000 animal study

George S. Bailey (Oregon State University, U.S.A.)

11:30 Urinary Bladder Carcinogenesis by DNA Reactive and Non-DNA Reactive Chemicals: Non-linearities and Thresholds

Samuel M. Cohen (University of Nebraska Medical Center, U.S.A.)

12:00 - 13:30

***** 昼 食 *****

13:30 - 15:30 セッション 2

座長 續 輝久, Elmar Gocke

13:30 A threshold for the murine T-cell lymphoma induction by N-ethyl-N-nitrosourea and/or radiation

柿沼 志津子 (放射線医学総合研究所)

14:00 Exposure to ethylating agents: Where do the thresholds for mutagenic/clastogenic effects arise?

Elmar Gocke (F. Hoffmann-La Roche Ltd., Switzerland)

14:30 Oxidative stress-induced tumorigenesis in the small intestine of Mutyh-deficient mice: the effect of low-level exposure to KBrO₃

續 輝久 (九州大学大学院)