

201131009B

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

食品添加物等における遺伝毒性発がん物質の
評価法に関する研究

平成21～23年度 総合研究報告書

主任研究者 能美 健彦

平成24(2012)年3月

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

食品添加物等における遺伝毒性発がん物質の
評価法に関する研究

平成21～23年度 総合研究報告書

主任研究者 能美 健彦

平成24(2012)年3月

目 次

I. 研究報告	
食品添加物等における遺伝毒性発がん物質の 評価法に関する研究	----- 1
能美健彦	
II. 研究成果の刊行に関する一覧表	----- 98
III. 研究成果の刊行物・別刷	----- 106

平成 21-23 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)
総合研究報告書

研究課題名: 食品添加物等における遺伝毒性発がん物質の評価法に関する研究

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

規制科学の分野において、発がん物質は、遺伝毒性作用の有無により、遺伝毒性発がん物質と非遺伝毒性発がん物質に分類される。遺伝毒性発がん物質とは、DNA と反応し突然変異や染色体異常を誘発することによりがん化を促進する物質であり、それ以外のメカニズム(例えばホルモン作用)によってがん化を促進する物質は非遺伝毒性発がん物質と呼ばれる。突然変異は確率的な事象と考えられるため、遺伝毒性発がん物質の作用には閾値がないとされ、どのように低用量であってもヒトに発がんリスクを負わせるものとして規制が行われている。これに対し、非遺伝毒性発がん物質の作用には閾値が存在し、閾値以下の用量であれば安全に扱うことができると考えられている。しかし、ヒトを含む生物には、さまざまな生体防御機構が存在しており、遺伝毒性発がん物質であっても、低用量であればその作用を低減し、「実質的な閾値」を形成する可能性が考えられる。本研究班では、遺伝子工学的に改変されたマウス、ヒト細胞を用い、遺伝毒性物質の実質的な閾値形成のメカニズムを検討することを主な目的とした。具体的には、解毒代謝に関わる *Nrf2* 遺伝子欠損マウス(青木)、DNA 修復に関わる *Mutyh* 遺伝子欠損マウス(續)、誤りのないトランスリージョン DNA 合成に関わる DNA ポリメラーゼ κ あるいは ι をノックアウトしたヒト細胞(能美)を用いて、遺伝毒性物質に対する感受性を検討し、これらの生体防御因子が遺伝毒性物質に対する実質的な閾値の形成に関与している可能性を示唆した。またヒト染色体上の特定箇所、1 つだけ酸化損傷である 8-オキソグアニン(8-Oxo-Gua)を導入する手法を確立し、その変異誘発頻度を測定した(安井)。8-Oxo-Gua は、約 20%の頻度で突然変異を誘発し、変異が確率的な事象であることを示したが、一方で全ての 8-Oxo-Gua が変異に結びつくわけではないことを示し「実質的な閾値」の存在を示唆した。さらに次世代 DNA シークエンサーを用いたゲノム解析(山田)、ミスマッチ修復蛋白質を用いた DNA 損傷の分析法(松田)についても検討した。平成 23 年度には、東京で「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」を開催し、研究班の成果を発表するとともに、遺伝毒性発がん物質の閾値に関する論議を促進した。上記の研究を通じ、食品添加物等における遺伝毒性発がん物質の評価法に関する研究を推進した。

キーワード: 遺伝毒性発がん物質、閾値、DNA 修復、酸化ストレス、解毒代謝、トランスリージョン DNA 合成

分担研究者

青木康展	国立環境研究所、環境リスク研究センター、副センター長
續 輝久	九州大学大学院医学研究院教授
安井 学	国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部 主任研究官 (平成 22-23 年度)
山田雅巳	国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部 室長
松田知成	京都大学工学研究科 准教授
本間正充	国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部 室長 (平成 21 年度)
長尾美奈子	慶応義塾大学薬学部 客員教授 (平成 21 年度)

A. 研究目的

がんは日本における死亡原因の上位を占め、日本人の二人に一人は生涯に一度はがんに罹患し、三人に一人はがんで亡くなると推定されている。がんの大きな原因として、食品あるいは食品成分があげられており、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きわめて高い。

一般に、食品添加物等、食品に含まれる化学物質の安全性評価は、齧歯類を用いる毒性試験の結果に基づいて行われており、無毒性用量 (NOAEL, no observed adverse effect level) を設定し、これ以下の用量においては毒性は発現しないものとして規制を行っている。しかし遺伝毒性物質については、放射線と同様に、どのように低用量であっても、突然変異を誘発すると考えられており、遺伝毒性を示す発がん物質について、NOAEL は設定されず、食品添加物等の一日許容摂取量 (ADI, administered daily intake) は設定されない。これは、遺伝毒性物質は、例え1分子であっても DNA と反応してゲノムに不可逆的な変化(突

然変異)を起こし、がんを誘発する可能性があるとする考え方に基づいている。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、さらなる検討が求められている。

ヒトには、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、生体防御物質、抗酸化物質によって不活化される。エポキシドの分解やグルクロン酸との抱合を触媒するエポキシドヒドロレーズ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)。

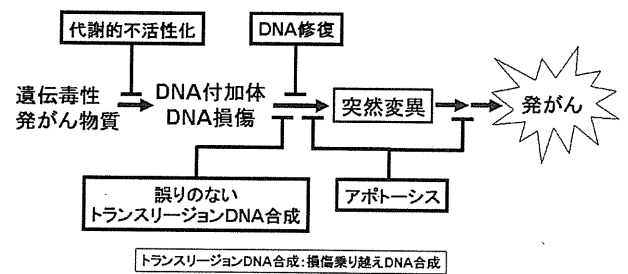


図 1 遺伝毒性発がん物質の「事実上の閾値」形成に貢献すると考えられる諸因子

本研究では、遺伝子ノックアウト(KO)マウスや KO ヒト細胞を用い、解毒代謝、DNA 修復、誤りのないトランスリージョン DNA 合成が、遺伝毒性物質の実際的な閾値形成に関与する可能性について検討することを主な目的とした。また、1 分子の酸化 DNA 損傷(8-オキソグ

アニン、8-Oxo-Gua)をヒト細胞の染色体上の特定箇所に導入する手法を確立し、1分子のDNA損傷が突然変異を誘発するかを検討した。さらに、次世代DNAシーケンサー、ミスマッチ修復蛋白質を用いる変異、DNA損傷の検出法についても検討した。

研究の結果、酸化ストレス発がんに対する閾値形成要因として、DNA修復酵素であるMutyhが重要な役割を果たすこと、1分子の8-Oxo-Guaは約20%の確率で突然変異を起こすことを明らかにした。また平成23年11月には、東京において、「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」(招待講演者10名、参加者約200名)を開催した。

B. 研究方法

1) Nrf2-KO *gpt* delta マウスへの臭素酸カリウム(KBrO₃)の投与

KBrO₃ (シグマ社製)を投与直前にイオン交換水に溶解し、Nrf2(-/-)マウスには0.2, 0.6あるいは2g/Lの用量で、Nrf2(-/-) *gpt*(+/+)マウスには2g/Lの用量で、6週齢目から28日間飲水投与した。酸化的付加体測定と病理の観察のため、最終投与日の翌日に解剖し、小腸、肝臓などの臓器を採取した。*gpt*変異体頻度測定には最終投与日の2週間後に臓器を採取した。小腸については、小腸上皮組織をセルスクレーパーで掻き取りゲノムDNA抽出用の試料とした(青木)。

2) Mutyh KO マウスへの KBrO₃ の投与

KBrO₃ (シグマ社製)を純水に溶解し、0.05、0.1%および0.2%(=2g/L)溶液を調製後濾過滅菌し、マウスの飲料水とした。投与方法としては、発がん解析には16週間の自由飲水で行い、消費量については週一回モニターした。マウスを安楽死させた後、腸管を摘出して10%ホルマリンを用いて固定した。その後、固定液を70%エタノール

に置換えて、腸粘膜を実体顕微鏡下で観察し、腫瘍の形成を確認した。検出した腫瘍から病理切片を作製し、病理解析を行った(續)。

3) DNAポリメラーゼ(Pol) κ ノックイン(KI)マウスの樹立とPol κ 、Pol ζ KOヒト細胞株の樹立

マウスPol κ の活性中心の2アミノ酸、アスパラギン酸とグルタミン酸をそれぞれアラニンに置換した変異Pol κ 遺伝子配列を含むターゲティングベクターを、マウスES細胞に導入してPol κ KIマウスを樹立した。Pol κ KOヒト細胞は、*POLK*遺伝子のエキソン6を除くようなターゲティングベクターをヒトプレB細胞由来のNalm-6細胞へトランスフェクションして樹立した。Pol ζ KO細胞は、*POLZ* (REV3)遺伝子のエキソン5を除くようなターゲティングベクターをNalm-6細胞へトランスフェクションして樹立した(能美)。

4) 8-Oxo-Guaのヒト染色体特定部位への導入と変異頻度の測定

TSCER122細胞に、I-SceIを発現させるベクターpCBASceと8-Oxo-Guaを特定箇所に導入した直鎖状二本鎖プラスミドpYTK15^{Oxo}(あるいはコントロールベクターpYTK15)を同時にトランスフェクションし、3日間培養(37°C, 5% CO₂)した。次に、その細胞を、HAT試薬の存在下、96穴プレート上(1000細胞/well)でさらに2週間培養すしTK復帰細胞のクローン(TK+/-)を回収した。その後、各ゲノムDNAを抽出し、8-Oxo-Gua部位だった周辺のシーケンスを行った(安井)。

5) DNAシーケンサーによる大腸菌ゲノム変異の解析

Escherichia coli AB1157(野生株)、

YG6156 (*mutT* 欠損変異株; ΔT)、YG2250 (*mutM/mutY* 二重欠損変異株; ΔMY)、AB1157/pYG782 (*dinB* 高発現株; +B) の 4 菌株を使用した。各菌株のゲノム DNA を抽出精製し、Illumina 社の Genome Analyzer (GA II x) あるいは Hiseq2000 を用いてシーケンシングを行い、塩基配列データを取得した。参照配列および野生株との比較から、変異部位を同定した(山田)。

6) DNA 損傷結合タンパクのプロテオーム解析とミスマッチ修復蛋白質複合体の解析
A549 細胞をリジンとアルギニンの安定同位体を含む培地で培養し SILAC (stable isotope labeling with amino acid in cell culture) ラベルした。G:T ミスマッチを一か所含む 60mer の 2 本鎖オリゴヌクレオチドと、ミスマッチを含まないコントロール DNA を調製し、SILAC ラベルした核抽出物はミスマッチ DNA と、ラベルしていない核抽出物はコントロール DNA と反応させた。コントロール DNA およびミスマッチ DNA を混ぜ合わせ、結合しているタンパク質を SDS-PAGE で分離しナノ HPLC-Q-TOF/MS を用いてプロテオーム解析を行った。N 末端に FLAG-HA タグをつないだ MLH1 を発現する HeLa S3 細胞を 0.9 mM メチルニトロソ尿素 (MNU) に 24 時間曝露した後、核、細胞質の抽出物から、MLH1 複合体を免疫沈降させ、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、ゲル内トリプシン消化後、nanoLC-ESI-Q-Tof 型質量分析計を用いて、MLH1 と相互作用する蛋白質を同定した(松田)。

(倫理面への配慮)

本研究は、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。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) Nrf2 KO マウスの $KBrO_3$ に対する感受性

1 群 3 匹の Nrf2 (-/-) マウスに $KBrO_3$ を 0.2, 0.6, 2 g/L の用量で、対照として 1 群 3 匹の Nrf2 (+/+) マウスに 2 g/L の用量で $KBrO_3$ を投与した。その結果、2 g/L を投与した Nrf2 (-/-) マウスの内 1 匹が投与 3 週目で死亡した。そこで、0.6 g/L を Nrf2 (-/-) *gpt delta* マウスへの投与用量とした。また、これらの結果より、Nrf2 欠損により $KBrO_3$ への感受性が高くなることが明らかになった(青木)。

2) *Mutyh* KO マウスの $KBrO_3$ に対する感受性

0.2% (= 2 g/L) $KBrO_3$ を投与した *Mutyh* 遺伝子欠損マウス 4 匹に生じた 1 個体当たりの平均腫瘍数は 60.8 ± 35.0 で、前回行った大規模な投与実験の結果 (51.0 ± 28.4) と同程度の腫瘍発生頻度であった。一方、0.1% $KBrO_3$ を投与された *Mutyh* 遺伝子欠損マウス 4 匹の小腸には、1 個体当たり平均 9.0 ± 8.3 の腫瘍が発生していたが、0.05% $KBrO_3$ を投与された *Mutyh* 遺伝子欠損マウス 9 匹の小腸には全く腫瘍の発生を認めなかった(図 2)。また野生型マウスでの有意な腫瘍発生の増加は認めなかった(續)。

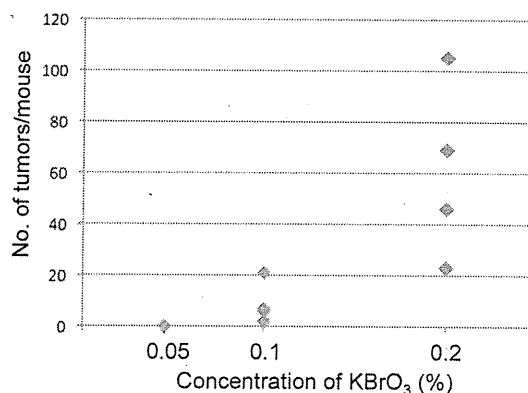


図 2 $KBrO_3$ 濃度と *Mutyh* 欠損マウス小腸での腫瘍発生頻度

3-1) Pol κ KI マウスの自然突然変異解析

12 週齢の雄 Pol κ KI マウスの肝臓および精巣の自然突然変異を解析した。点突然変異 (*gpt* 変異) 頻度は、Pol κ KI マウスと野生型の間には有意な差は認められなかった。Pol κ の不活化の有無に関わらず、肝臓での頻度が精巣よりも高かった。欠失 (Spi 変異) 頻度は、Pol κ KI が野生型に対し僅かに高い傾向を示した。精巣と肝臓間での変異頻度の差は認められなかった (能美)。

3-2) Pol κ KO および Pol ζ KO ヒト細胞の化学物質に対する感受性

Pol κ KO 細胞は、過酸化水素 (H_2O_2) の致死作用に対し、野生型細胞に比べ有意に高い感受性を示した。しかし、ベンツピレン (BP) + S9、マイトマイシン C (MMC)、紫外線 (UVC) に対しては、二株の間に感受性の差は見られなかった。これに対し、Pol ζ KO 細胞は、ベンツピレンジオールエポキシド (BPDE)、MMC、 $KBrO_3$ 、*N*-メチル-*N'*-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジン (MNNG) の致死感受性に関し、野生型細胞よりも有意に高い感受性を示した (能美)。

4) 1 分子の 8-Oxo-Gua によって誘発される変異

8-Oxo-Gua が導入されたヒト細胞、668 中 526 から正常塩基 Gua (79%) が検出された。一方、60 からは G:C \rightarrow T:A (9.0%)、18 からは G:C \rightarrow C:G (2.7%) が検出された。また、23 細胞から 1 塩基欠失 (3.4%) が検出され、その他 (2.2%) として、1 塩基挿入や G:C \rightarrow A:T 塩基置換も同定された。結論として、1 分子の 8-Oxo-Gua は、17.3% の頻度で点突然変異を誘発した (安井)。

5) 次世代 DNA シークエンサーを用いた変異解析

ΔT では、検出された 15 個の変異の半数が

A:T 塩基対の変化だった。 ΔMY では、24 個の変異のうち 18 個が G:C から T:A への変異であった。 $+B$ には 13 個の変異が検出されたが特徴的な変異は見られなかった (山田)。

6) DNA 損傷結合タンパクのプロテオーム解析とミスマッチ修復蛋白質複合体の解析

ミスマッチを持つ DNA と結合する蛋白質を網羅的に同定し、ミスマッチ修復蛋白質である MSH6 や MSH2 が検出された。そのほかにも機能がよくわからない PCBP1

(Poly(rC)-binding protein 1) や NCL といった蛋白質が同定された。プロテオーム解析の結果、MNU 処理した細胞の核内の MLH1 複合体からは、BRCA1 や FANCDJ、MSH2、MSH6 などの DNA 修復酵素が多数同定された。細胞質中の MLH1 とは、Cdc2 や CDK2、PA2G4 などの細胞周期に関わる蛋白質、BAX や CASP9、NFkB2 などのアポトーシスに関わる蛋白質が多数同定された (松田)。

7) 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) に一橋記念講堂 (東京都千代田区) において、国内から 6 名、国外から 4 名の講演者を招へいし、参加者約 200 名を得て、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を開催した (能美)。

D. 考 察

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。だが、現在の規制におけるパラダイムは、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されている。本研究班では、解毒代謝、

DNA 修復、誤りのないトランスリージョン DNA 合成に遺伝的修飾を加えた遺伝毒性試験用のマウス、あるいは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、1 分子の 8-Oxo-Gua をヒト染色体の特定箇所に導入し、その変異原性を精査した。次世代 DNA シークエンサー、ミスマッチ修復蛋白質を用いた DNA 損傷の同定法に関する基盤的な研究を行った。さらに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について討論した。

Nrf2 は、グルタチオン転移酵素をはじめとする第二相薬物代謝酵素の転写因子であり、*Nrf2* (-/-) マウスでは、無処理の状態でも、肝臓で(自然)突然変異頻度が上昇している。また BP の変異作用に対して高い感受性を示す (Aoki et al., *Cancer Res.*, 67, 5643-5648, 2007)。遺伝毒性発がん物質の閾値形成に、解毒代謝が関与している可能性を検討するため、*Nrf2* KO マウスに酸化ストレスを誘発する KBrO₃ を飲水投与し、その感受性を野生型マウスと比較した。その結果、野生型マウスでは致死に影響しない 2 g/L (= 0.2%) の用量で、*Nrf2* KO マウスに死亡例が見られた。現在、投与量を 0.6g/L に下げて、大腸における突然変異を野生型マウスと比較している(青木)。

Mutyh は、酸化ストレスにより生じた 8-Oxo-Gua の向かい側に誤って挿入されたアデニンを除去する DNA 修復酵素である。*Mutyh* KO マウスに KBrO₃ を飲水投与すると、2 g/L (= 0.2%) の用量で、小腸に多数の腫瘍が形成された。これに対し、野生型マウスでは、腫瘍の有意な増加は見られなかった。この結果から、酸化ストレスに基づくマウスの小腸腫瘍発生の実際的な閾値形成に関しては *Mutyh* が重要な役割を果たしていることが示唆された。さらに *Mutyh* 以外に閾値形成に関与する因子を検索するため、*Mutyh* KO マウスに低用量の KBrO₃ を投与した。その結果、

0.05% 投与群では腫瘍数の有意な増加は観察されず(図 1)、*Mutyh* 以外にも酸化ストレス発がん物質の閾値形成に関与する因子のあることが示唆された(續)。

トランスリージョン DNA 合成とは、DNA 損傷部位を乗り越えて進む DNA 合成のことであり、ヒトはトランスリージョン DNA 合成に関わる Pol を 14 種類あまり持っている。トランスリージョン DNA 合成に関わる Pol を欠いたマウスあるいは細胞では、遺伝毒性発がん物質に曝露された際に染色体複製が中断し、致死や突然変異が高まると予想される。今回、トランスリージョン DNA 合成に関わる Pol κ および Pol ζ を欠損させたヒト細胞を樹立し、その遺伝毒性発がん物質に対する致死感受性を検討した。その結果、Pol κ KO 細胞は H₂O₂ に高い感受性を示し、Pol ζ KO 細胞は、BPDE、MMC、KBrO₃、MNNG と多様な遺伝毒性発がん物質に感受性を示した。Pol κ KO 細胞は、KBrO₃ の致死作用に対して感受性を示さないことから、酸化ストレスに基づく細胞毒性からの防護に異なった Pol が関与している可能性が示唆された。今回の結果、トランスリージョン DNA 合成に関わる Pol が遺伝毒性発がん物質の閾値形成に関与する可能性が強く示唆され、今後は樹立した Pol κ KI マウスを用い個体レベルでの閾値形成にトランスリージョン DNA 合成が関与する可能性を検討する(能美)。

8-Oxo-Gua は酸化ストレスにより生ずる DNA 損傷の代表例であるが、はたしてヒト染色体上に生じた 1 分子の 8-Oxo-Gua が突然変異を誘発するかは不明であった。本研究で、ヒト染色体の特定部位に 1 分子の 8-Oxo-Gua を導入する手法を開発し、超低用量域における 8-Oxo-Gua の変異誘発性を検索した。その結果、導入した 8-Oxo-Gua の約 20 が変異に結びつくことが示され、従来から言われているように「突然変異は確率的な事象」であることが確認され、「絶対的な閾値はない」ことが示唆された。一方で、導入した 8-Oxo-Gua の約 80%

は変異に結びついておらず、この原因としてはDNA修復や8-Oxo-Guaの向かい側に正しいシトシンを挿入する誤りのないトランスリージョンDNA合成が考えられた。今回の結果は、全ての8-Oxo-Guaが変異を誘発するわけではないことを示しており、低用量域において8-Oxo-Guaの量が少ない場合には、変異が検出されず「実質的な閾値」が形成される可能性を示唆している(安井)。

近年のDNAシーケンサーの進歩は著しく、ゲノムサイズの小さな生物であれば、迅速かつ廉価に全ゲノムをシーケンスすることが可能である。従来の突然変異検出法は、レポーター遺伝子(薬剤耐性遺伝子、栄養要求性遺伝子)を用いていたが、レポーターにより検出できる変異のスペクトルには偏りがあり、より公平に変異スペクトルを解析するには、次世代DNAシーケンサーを用いて全ゲノムをシーケンスすることが最良の方法である。今回、高い自然突然変異を示す3種類の大腸菌株を用い次世代シーケンサーを用いて変異を解析したが、従来から言われた変異をほぼ検出することができ(*mutT*欠損株ではA:T→T:A、*mutMmutY*欠損株ではG:C→T:A)、次世代シーケンサーを用いる全ゲノム解析が変異検出に有用であることを示唆した(山田)。

DNAシーケンサーとともに質量分析計の進歩も著しく、微量蛋白質の同定に威力を発揮している。今回、SILAC法を用いてラベルした蛋白質を、塩基ミスマッチを持つオリゴヌクレオチドに結合させ、ミスマッチに特異的に結合する蛋白質を、質量分析計を用いて同定した。その結果、ミスマッチ修復蛋白質であるMSH6やMSH2が検出され、さらにMNUで処理したヒト細胞を用いてミスマッチ修復蛋白質の一種であるMLH1と相互作用する蛋白質を同定した。以上の結果から、遺伝毒性発がん物質への曝露により、細胞内の蛋白質(この場合にはMLH1)が相互作用する相手を変えることにより生体防御機能を発揮してい

ることが示唆された(松田)。

E. 結論

遺伝毒性発がん物質の閾値の形成には、生体防御機能(解毒代謝、DNA修復、トランスリージョンDNA合成)が関与している可能性が示唆された。閾値形成機構の研究において、遺伝的に修飾を加えたマウス、ヒト細胞は有用である。1分子の8-Oxo-Guaをヒト細胞に導入することにより、遺伝毒性発がん物質に「絶対的な閾値」はないこと、また、全ての8-Oxo-Guaが突然変異に結びつくわけではないことが示された。国際シンポジウム開催により国内外の閾値に関する意見が集約された。閾値に関する科学的知見を行政判断に結びつけるには、本件に関する国際的な合意の形成が必須であり、この点で本シンポジウムを今後も継続して行くことが重要であると考えられる。

F. 健康危機情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) A.H. Hashimoto, K. Amanuma, K. Masumura, T. Nohmi and Y. Aoki, *in vivo* mutagenesis caused by diesel exhaust in the testis of *gpt* delta transgenic mice, *Genes and Environ.*, 31, 1-8 (2009)
- 2) Y. Aoki, A.H. Hashimoto, K. Amanuma and M. Matsumoto, Potency of air pollutants at DNA adduct formation and assessment by *in vivo* mutagenesis. In DNA adduct formation, detection and mutagenesis. (ed. Alvarez E. and Cunha R.) Nova Science Publishers. 143-153, 2010.
- 3) K. Komori, T. Takagi, M. Sanada, T-H. Lim, Y. Nakatsu, T. Tsuzuki, M. Sekiguchi and M. Hidaka, A novel

- protein, MAPO1, that functions in apoptosis triggered by O6-methylguanine mispair in DNA, *Oncogene*, 28, 1142-1150 (2009)
- 4) RS. Galhardo, R. Do, M. Yamada, EC. Friedberg, PJ. Hastings, T. Nohmi and SM. Rosenberg, DinB upregulation is the sole of the SOS response in stress-induced mutagenesis in *Escherichia coli*, *Genetics.*, 182, 55-68 (2009)
 - 5) N. Niimi, A. Sassa, A. Katafuchi, P. Gruz, H. Fujimoto, RR. Bonala, F. Johnson, T. Ohta and T. Nohmi, The steric gate amino acid tyrosine 112 is required for efficient mismatched-primer extension by human DNA polymerase kappa, *Biochemistry.*, 48, 4239-4246 (2009)
 - 6) A. Shibata, D. Maeda, H. Ogino, M. Tsutsumi, T. Nohmi, H. Nakagama, T. Sugimura, H. Teraoka and 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.*, 664, 20-27, (2009)
 - 7) DA. Eastmond, A. Hartwig, D. Anderson, WA. Anwar, MC. Cimino, I. Dobrev, GR. Douglas, T. Nohmi, DH. Phillips and C. Vickers, Mutagenicity testing for chemical risk assessment: update of the WHO/IPCS Harmonized Scheme, *Mutagenesis.*, 24, 341-349 (2009)
 - 8) AM. Salem, T. Nakao, M. Takuwa, N. Matoba, T. Tsuboi, H. Terato, K. Yamamoto, M. Yamada, T. Nohmi and H. Ide, Genetic analysis of repair and damage tolerance mechanisms for DNA-protein cross-links in *Escherichia coli*, *J. Bacteriol.*, 191, 5657-5668 (2009)
 - 9) H. Fukuda, T. Takamura-Enya, Y. Masuda, T. Nohmi, C. Seki, K. Kamiya, T. Sugimura, C. Masutani, F. Hanaoka and H. Nakagama, Translesional DNA synthesis through a C8-guanyl adduct of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) in vitro: REV1 inserts dC opposite the lesion, and DNA polymerase kappa potentially catalyzes extension reaction from the 3'-dC terminus, *J. Biol. Chem.*, 284, 25585-25592 (2009)
 - 10) Y. Totsuka, T. Higuchi, T. Imai, A. Nishikawa, T. Nohmi, T. Kato, S. Masuda, N. Kinase, K. Hiyoshi, S. Ogo, M. Kawanishi, T. Yagi, T. Ichinose, N. Fukumori, M. Watanabe, T. Sugimura and K. Wakabayashi, Genotoxicity of nano/microparticles in in vitro micronuclei, *in vivo* comet and mutation assay systems, *Part. Fibre. Toxicol.*, 6, 23-33 (2009)
 - 11) A. Katafuchi, A. Sassa, N. Niimi, P. Gruz, H. Fujimoto, C. Masutani, F. Hanaoka, T. Ohta and T. Nohmi, Critical amino acids in human DNA polymerases η and κ involved in erroneous incorporation of oxidized Nucleotides, *Nucleic Acids Res.*, 38, 859-867 (2010)
 - 12) N. Toyoda-Hokaiwado, T. Inoue, K. Masumura, H. Hayashi, Y. Kawamura, Y. Kurata, M. Takamune, M. Yamada, H. Sanada, T. Umemura, A. Nishikawa and T. Nohmi, Integration of *in vivo* genotoxicity and short-term carcinogenicity assays using F344 *gpt* delta transgenic rats: *in vivo* mutagenicity of 2,4-diaminotoluene and 2,6-diaminotoluene structural isomers,

- Toxicol. Sci., 114, 71-78 (2010).
- 13) N. Okudaira, Y. Uehara, K. Fujiwara, N. Kagawa, A. Ootsuyama, T. Norimura, K. Saeki, T. Nohmi, K. Masumura, T. Matsumoto, Y. Oghiso, K. Tanaka, K. Ichinohe, S. Nakamura, S. Tanaka and T. Ono, Radiation dose-rate effect on mutation induction in spleen and liver of *gpt* delta mice, *Radiat. Res.*, 173, 138-147 (2010)
 - 14) M. Yamada, K. Matui, A. Katafuchi, M. Takamune and T. Nohmi, Development of tester strains deficient in Nth/Nei DNA glycosylases to selectively detect the mutagenicity of oxidized DNA pyrimidines, *Genes and Environ.*, 31, 69-79 (2009)
 - 15) 松田, 永吉, 梶村, 周, 液体クロマトグラフィータンデム質量分析法を用いたDNA 損傷研究法. *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, 57, 301-304 (2009)
 - 16) 松田, 足立, 周, アダクトミクス-DNA およびタンパク質付加体の網羅的解析. *実験医学増刊*, 27, 2481-2488 (2009)
 - 17) Y. Takashima, M. Sakuraba, T. Koizumi, H. Sakamoto, M. Hayashi and M. Honma, Dependence of DNA double strand break repair pathways on cell cycle phase in human lymphoblastoid cells. *Environ Mol Mutagen.*, 50, 815-822 (2009)
 - 18) J. Wang, J.R. Sawyer, L. Chen, T. Chen, M. Honma, N. Mei and M.M. Moore, The mouse lymphoma assay detects recombination, deletion, and aneuploidy. *Toxicol Sci.* 109, 96-105 (2009)
 - 19) F. Yatagai, K. Sugawara, S. Enomoto, and M. Honma, An approach to estimation from DSB Repair Efficiency. *J. Radiat. Res.*, 50, 407-413 (2009)
 - 20) K. Inami, M. Nagao, S. Ishikawa and M. Mochizuki. Mutagenicity of heterocyclic amines by chemical models for cytochrome P450 in the Ames assay. *Gene Environ.* 32, 7-13 (2010)
 - 21) A. Furuhashi, T. Toida, M. Nishikawa, Y. Aoki, Y. Yoshioka and F. Shiraishi, Development of an ecotoxicity QSAR model for the KASHINHOU Tool for Ecotoxicity (KATE) system, March 2009 version, *SAR QSAR Environ. Res.*, 21, 403-413 (2010)
 - 22) J. Kawahara, C. Tanaka, C. Tanaka, Y. Aoki and J. Yonemoto, Estimation of the respiratory ventilation rate of preschool children in daily life, *J. Air Waste Manag. Assoc.*, 61, 46-54 (2011)
 - 23) 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)
 - 24) N. Sagata, A. Iwaki, T. Aramaki, K. Takao, S. Kura, T. Tsuzuki, R. Kawakami, I. Ito, T. Kitamura, H. Sugiyama, T. Miyakawa, and Y. Fukumaki, Comprehensive behavioral study of GluR4 knockout mice: implication in cognitive function. *Genes, Brain Behavior*, 9, 899-909 (2010)
 - 25) T. Nakamura, S. Meshitsuka, S. Kitagawa, N. Abe, J. Yamada, T. Ishino, H. Nakano, T. Tsuzuki, T. Doi, Y. Kobayashi, S. Fujii, M. Sekiguchi and Y. Yamagata, Structural and dynamic features of the MutT protein in the recognition of nucleotides with the mutagenic 8-oxoguanine base, *J. Biol. Chem.*, 285, 444-452 (2010)
 - 26) H. Kamiya M. Uchiyam, J.-S. Piao, Y.

- Nakatsu, T. Tsuzuki and H. Harashima, Targeted sequence alteration of a chromosomal locus in mouse liver. *Inter. J. Pharmaceutics*, 387, 180-183 (2010)
- 27) A. Sassa, N. Niimi, H. Fujimoto, A. Katafuchi, P. Grúz, M. Yasui, R. C. Gupta, F. Johnson, T. Ohta and T. Nohmi, Phenylalanine 171 is a molecular brake for translesion synthesis across benzo[a]pyrene-guanine adducts by human DNA polymerase kappa, *Mutat. Res.*, 718, 10-17 (2011)
- 28) M. Hori, S. Yonekura, T. Nohmi, P. Gruz, H. Sugiyama, S. Yonei and Q.-M. Zhang-Akiyama, Error-prone translesion DNA synthesis by Escherichia coli DNA polymerase IV (DinB) on templates containing 1,2-dihydro-2-oxoadenine, *J. Nucleic Acids*, Article ID 207579.
- 29) M. Tasaki, T. Umemura, Y. Suzuki, D. Hibi, T. Inoue, T. Okamura, Y. Ishii, S. Maruyama, T. Nohmi and A. Nishikawa, Oxidative DNA damage and reporter gene mutation in the livers of *gpt* delta rats given non-genotoxic hepatocarcinogens with cytochrome P450-inducible potency, *Cancer Sci.*, 101, 2525-2530 (2010)
- 30) A. Sheh, C.W. Lee, K. Masumura, B.H. Rickman, T. Nohmi, G. N. Wogan, J.G. Fox and D.B. Schauer, Mutagenic potency of Helicobacter pylori in the gastric mucosa of mice is determined by sex and duration of infection, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 107, 15217-15222 (2010)
- 31) K. Masumura, Y. Sakamoto, M. Ikeda, Y. Asami, T. Tsukamoto, H. Ikehata, Y. Kuroiwa, T. Umemura, A. Nishikawa, M. Tatematsu, T. Ono and T. Nohmi, Antigenotoxic effects of p53 on spontaneous and UVB-induced deletions in the epidermis of *gpt* delta transgenic mice, *Environ. Mol. Mutagen.*, 52, 244-252 (2011)
- 32) J.H.Y. Wong, J.A. Brown, Z. Suo, P. Blum, T. Nohmi and H. Ling, Dynamic bypass of a major cisplatin-DNA adduct revealed in structural, kinetic and *in vivo* studies, *EMBO J.*, 29, 2059-2069 (2010)
- 33) T. Okamura, Y. Ishii, Y. Suzuki, T. Inoue, M. Tasaki, Y. Kodama, T. Nohmi, K. Mitsumori, T. Umemura and A. Nishikawa, Effects of co-treatment of dextran sulfate sodium and MeIQx on genotoxicity and possible carcinogenicity in the colon of p53-deficient mice, *J. Toxicol. Sci.* 35, 731-741 (2010)
- 34) T. Okamura, Y. Ishii, Y. Suzuki, T. Inoue, M. Tasaki, Y. Kodama, T. Nohmi, K. Mitsumori, T. Umemura and A. Nishikawa, Enhancing effects of carbon tetrachloride on *in vivo* mutagenicity in the liver of mice fed 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoline (MeIQx), *J. Toxicol. Sci.*, 35, 709-720 (2010)
- 35) V. Thybaud, J.T. Macgregor, L. Muller, R. Crebelli, K. Dearfield, G. Douglas, P.B. Farmer, E. Gocke, M. Hayashi, D.P. Lovell, W.K. Lutz, D. Marzin, M. Moore, T. Nohmi, D.H. Phillips and J. Van Benthem, Strategies in case of positive *in vivo* results in genotoxicity testing, *Mutat. Res.*, 723, 121-128 (2011)
- 36) T. Nohmi and M. Bignami, Nucleotide pool damage and its biological consequences, *Mutat. Res.*, 703, 1-1 (2010)
- 37) A. Katafuchi and T. Nohmi, DNA

- polymerases involved in the incorporation of oxidized nucleotides into DNA: the efficiency and template base preference, *Mutat. Res.*, 703, 24-31 (2010)
- 38) M. Yasui, N. Koyama, T. Koizumi, K. Senda-Murata, Y. Takashima, M. Hayashi, K. Sugimoto, and M. Honma, Live cell imaging of micronucleus formation and development. *Mutat. Res.* 692, 12-18 (2010)
- 39) N. Koyama, M. Yasui, Y. Oda, S. Suzuki, T. Satoh, T. Suzuki, T. Matsuda, S. Masuda, N. Kinae, and M. Honma, Genotoxicity of acrylamide in vitro: Acrylamide is not metabolically activated in standard in vitro systems. *Environ. Mol. Mutagen.* 52, 11-19 (2011)
- 40) K. Kato, E. Yamamura, M. Kawanishi, T. Yagi, T. Matsuda, 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)
- 41) P.H. Chou, S. Kageyama, S. Matsuda, K. Kanemoto, Y. Sasada, M. Oka, K. Shinmura, H. Mori, K. Kawai, H. Kasai, H. Sugimura and T. Matsuda, Detection of lipid peroxidation-induced DNA adducts caused by 4-oxo-2(E)-nonenal and 4-oxo-2(E)-hexenal in human autopsy tissues. *Chem Res Toxicol.* 23, 1442-1448 (2010)
- 42) T. Matsuda, Anticipated Mutation Assay Using Single-molecule Real-time (SMRT™) Sequencing Technology. *Genes and Environment*, 32, 21-24 (2010)
- 43) H. Takemura, H. Nagayoshi, T. Matsuda, H. Sakakibara, M. Morita, A. Matsui, T. Ohura and K. Shimoi, Inhibitory effects of chrysoeriol on DNA adduct formation with benzo[a]pyrene in MCF-7 breast cancer cells. *Toxicology*, 274, 42-48 (2010)
- 44) T. Oyama, H. Nagayoshi, T. Matsuda, M. Oka, T. Isse, H.S. Yu, T.T. Pham, K. Tanaka, N. Kagawa, K. Kaneko and T. Kawamoto, Effects of acetaldehyde inhalation in mitochondrial aldehyde dehydrogenase deficient mice (Aldh2-/-). *Front Biosci (Elite Ed)*, 2, 1344-1354 (2010)
- 45) K. Kawai, P.H. Chou, T. Matsuda, M. Inoue, K. Aaltonen, K. Savela, Y. Takahashi, H. Nakamura, T. Kimura, T. Watanabe, R. Sawa, K. Dobashi, Y.S. Li, and H. Kasai, DNA Modifications by the omega-3 Lipid Peroxidation-Derived Mutagen 4-Oxo-2-hexenal in Vitro and Their Analysis in Mouse and Human DNA. *Chem Res Toxicol.* 23, 630-636 (2010)
- 46) K. Ishino, C. Wakita, T. Shibata, S. Toyokuni, S. Machida, S. Matsuda, T. Matsuda and K. Uchida, Lipid peroxidation generates body odor component trans-2-nonenal covalently bound to protein *in vivo*. *J Biol Chem*, 285, 15302-15313 (2010)
- 47) A. Furuhashi, K. Hasunuma, Y. Aoki, Y. Yoshioka and H. Shiraishi, Application of chemical reaction mechanistic domains to an ecotoxicity QSAR model, the KAshinhou Tool for Ecotoxicity (KATE). *SAR QSAR Environ. Res.*, 22, 505-523 (2011)
- 48) 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)
- 49) 青木康展 改正「化審法」の施行 フォルマシア 47(9) 895-870 (2011).
- 50) 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 MAPO1 and FLCN induces apoptosis triggered by alkylated base mismatch in DNA. *DNA Repair* (in press)
- 51) 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 (Note). *Health Physics*, 100, 293-294 (2011)
- 52) 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」(山村研一/若菜茂晴 編), 中山書店, pp. 339-345, pp. 466-467 (2011)
- 53) T. Kamigaito, T. Noguchi, K. Narumi, R. Takashima, S. Hamada, H. Sanada, M. Hasuko, H. Hayashi, K. Masumura and T. Nohmi, Evaluation of the *in vivo* mutagenicity of nickel subsulfide in the lung of F344 *gpt* delta transgenic rats exposed by intratracheal instillation: A collaborative study for the *gpt* delta transgenic rat mutation assay, *Genes and Environ.*, in press.
- 54) H. Sui, R. Ohta, T. Shiragiku, A. Akahori, K. Suzuki, M. Nakajima, H. Hayashi, K. Masumura and T. Nohmi, Evaluation of *in vivo* mutagenicity by 2,4-diaminotoluene and 2,6-diaminotoluene in liver of F344 *gpt* delta transgenic rat dosed for 28 days: a collaborative study of the *gpt* delta transgenic rat mutation assay, *Genes and Environ.*, in press.
- 55) Y. Kawamura, H. Hayashi, O. Tajima, S. Yamada, T. Takayanagi, H. Hori, W. Fujii, K. Masumura and T. Nohmi, Evaluation of the genotoxicity of aristolochic acid in the kidney and liver of F344 *gpt* delta transgenic rat using a 28-day repeated-dose protocol: a collaborative study of the *gpt* delta transgenic rat mutation assay, *Genes and Environ.*, in press.
- 56) M. Jin, A. Kijima, Y. Suzuki, D. Hibi, T. Inoue, Y. Ishii, T. Nohmi, A. Nishikawa, K. Ogawa and T. Umemura, Comprehensive toxicity study of safrole using a medium-term animal model with *gpt* delta rats, *Toxicol.*, 290, 312-321 (2011)
- 57) N. Toyoda-Hokaiwadol, Y. Yasui, M. Takamune, M. Yamada, M. Muramatsu, K. Masumura, M., T. Ohta, T. Tanaka and T. Nohmi, Modulatory effects of capsaicin on N-diethylnitrosamine (DEN)-induced mutagenesis in *Salmonella typhimurium* YG7108 and DEN-induced hepatocarcinogenesis in *gpt* delta transgenic rats, *Genes and Environ.*, 33, 160-166 (2011)
- 58) N. Toyoda-Hokaiwadol, Y. Yasui, M. Muramatsu, K. Masumura, M. Takamune, M. Yamada, T. Ohta, T. Tanaka and T. Nohmi, Chemopreventive effects of

- silymarin against
1,2-dimethylhydrazine plus dextran
sodium sulfate-induced
inflammation-associated
carcinogenicity and genotoxicity in
the colon of *gpt* delta rats,
Carcinogenesis, 32, 1512-1517 (2011)
- 59) D. Hibi, Y. Suzuki, Y. Ishii, M. Jin,
M. Watanabe, Y. Sugita-Konishi, T.
Yanai, T. Nohmi, A. Nishikawa and T.
Umemura, Site-specific *in vivo*
mutagenicity in the kidney of *gpt*
delta rats given a carcinogenic dose
of ochratoxin A, *Toxicol. Sci.*, 122,
406-414 (2011)
- 60) A. Yamamoto, Y. Sakamoto, K. Masumura,
M. Honma and T. Nohmi, Involvement of
mismatch repair proteins in adaptive
responses induced by
N-methyl-*N*'-nitro-*N*-nitrosoguanidi
ne against γ -induced genotoxicity in
human cells, *Mutat. Res.*, 713, 56-63
(2011)
- 61) N. Koyama, M. Yasui, A. Kimura, S.
Takami, T. Suzuki, K. Masumura, T.
Nohmi, S. Masuda, N. Kinai, T. Matsuda,
T. Imai and M. Honma, Acrylamide
genotoxicity in young versus adult *gpt*
delta male rats, *Mutagenesis*, 26,
525-529 (2011)
- 62) A. Sassa, T. Ohta, T. Nohmi, M. Honma
and M. Yasui, Mutational
specificities of brominated DNA
adducts catalyzed by human DNA
polymerases, *J. Mol. Biol.*, 406,
679-686 (2011)
- 63) P. Hakulinen, A. Yamamoto, N. Koyama,
W. Kumita, M. Yasui and M. Honma,
Induction of TK mutations in human
lymphoblastoid TK6 cells by the rat
carcinogen
3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hy
droxy-2(5H)-furanone (MX). *Mutat.*
Res. 725, 43-49 (2011)
- 64) 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 T.
Matsuda, Genetic susceptibility to
lung cancer, *Front Biosci (Schol Ed)*
3, 1463-1477 (2011)
- 65) K. Shinmura, M. Goto, M. Suzuki, H.
Tao, H. Yamada, H. Igarashi, S.
Matsuura, M. Maeda, H. Konno, T.
Matsuda 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)
- 66) S. Matsuda, S. Matsui, Y. Shimizu
and T. Matsuda, Genotoxicity of
colloidal fullerene C(60), *Environ.*
Sci. Technol., 45, 4133-4138 (2011)
- 67) K. Kato, E. Yamamura, M. Kawanishi,
T. Yagi, T. Matsuda, 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)

2. 学会発表

- 1) Aoki Y. Enhanced *in vivo* mutations in the lung of phase II enzyme-suppressed mice. X International Conference on Environmental Mutagens. Firenze, Italy, August 2009.
- 2) Aoki Y. Assessment of *in vivo* mutagenesis induced by environmental chemicals using transgenic animals for detecting mutagens. 2nd International Conference on Environmental Health Science. Seoul, Korea, October 2009.
- 3) Aoki Y., Hashimoto A.H., Amanuma K., Matsumoto M., Masumura K., Nohmi T. *In vivo* mutagenesis induced by the air pollutants in the testis of *gpt* delta transgenic mice. 21st Century Advances in the Molecular Toxicology of Environmental Chemicals and Pathogenesis of Disease, HORIBA International Conference, CDBIM Symposium, 21st Century Advances in the Molecular Toxicology of Environmental Chemicals and Pathogenesis of Disease, Tokyo, Japan, October 2009
- 4) Aoki Y., Matsumoto M., Relationship between carcinogenic potency and *in vivo* mutagenicity of tested chemicals, The 38th Annual Meeting of the Japanese Environmental Mutagen Society (38th JEMS), Shizuoka, November 2009
- 5) 青木康展 (2009) 有害大気汚染物質に関わる大気環境基準 (指針値) 設定におけるリスク評価. 日本リスク研究学会第 22 回年次大会, 東京 November 2009.
- 6) Aoki Y., Hashimoto A.H., Matsumoto M., Sugawara Y., Goto S., Masumura K., Nohmi T. Benzo[a]pyrene-Induced Mutagenesis in the Lungs of Young and Old Mice: Young Mice Are Highly Susceptible. CCT Meetings PPTOX II: Role of Environmental Stressors in the Developmental Origins of Disease, Miami Beach, USA, December 2009
- 7) T-H., Lim, M. Hidaka, Y. Nakatsu, M. Sekiguchi and T. Tsuzuki, Characterization of Mapo1-defective mutant that is unable to induce apoptosis triggered by alkylated DNA damage 第 32 回日本分子生物学会年会, 2009. 12. 09.
- 8) M. Hidaka, K. Komori, Y. Takagi, M. Sanada, T-H. Lim, Y. Nakatsu, T. Tsuzuki and M. Sekiguchi, MAPO1 plays a role in the induction of apoptosis to preserve genome integrity from environmental stress, 第 32 回日本分子生物学会年会, 2009. 12. 10.
- 9) 大野みずき, 作見邦彦, 古市正人, 岡素雅子, 續輝久, 中別府雄作, 酸化了的 DNA 損傷に起因する染色体変異とその抑制機構, 第 32 回日本分子生物学会年会, 2009. 12. 10.
- 10) 大野みずき, 作見邦彦, 古市正人, 續輝久, 中別府雄作, 酸化了的 DNA 損傷と生殖細胞ゲノム変異, 日本環境変異学会 第 38 回大会, 2009. 11. 26.
- 11) 大野みずき, 作見邦彦, 古市正人, 續輝久, 中別府雄作, 酸化了的 DNA 損傷と生殖細胞ゲノム変異, 日本放射線影響学会第 52 大会, 2009. 11. 11.
- 12) 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, The 40th International Symposium of the Princess Takamatsu Cancer Research Fund "Cancer and DNA Repair", 2009. 11. 10.
- 13) 續輝久, 磯田拓郎, 朴晶淑, 作見邦彦, 中別府雄作, 中津可道, 酸化ストレス誘発がんの抑制に関する分子機構の解明-*MutYh* 遺伝子欠損マウスにおける消化管がんの解析を中心として-, 日本生化学会第 82 回大会, 2009. 10. 24.
- 14) 續輝久, 酸化ストレス誘発がんの抑制に関する分子機構の解明-*MutYh* 遺伝子欠損マウスにおける消化管がんの解析を中心として-, 第 51 回日本消化器病学会大会, 2009. 10. 15.
- 15) 松本戴恭, 朴晶淑, 中津可道, 前原喜彦, 續輝久, Trp53 欠損マウスを用いた KBrO₃ 投与による酸化ストレス誘発小腸腫瘍の解析, 第 68 回日本癌学会学術総会, 2009. 10. 01.
- 16) 中津可道, 松本戴恭, 朴晶淑, 續輝久, 酸化ストレス誘発消化管発癌抑制における癌関連遺伝子の働き, 日本遺伝学会第 81 回大会, 2009. 09. 16.
- 17) 日高真純, 高木康光, 真田正幸, Lim Teik-How, 中津可道, 續輝久, 関口睦夫, アルキル化損傷誘導アポトーシス経路で機能する MAP01 タンパク質複合体, 日本遺伝学会第 81 回大会, 2009. 09. 16.
- 18) 大野みずき, 作見邦彦, 古市正人, 續輝久, 中別府雄作, 酸化損傷塩基の修復能を欠損するマウスにおける継世代的影響の解析, 日本遺伝学会第 81 回大会, 2009. 09. 16.
- 19) 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, 10th International Conference on Environmental Mutagens (ICEM), 2009. 08. 23.
- 20) 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, 3rd ASM Conference on DNA Repair and Mutagenesis, 2009. 06. 01.
- 21) M. Hidaka, K. Komori, Y. Takagi, M. Sanada, T-H. Lim, Y. Nakatsu, T. Tsuzuki and M. Sekiguchi, A new member of genes, Map01, involve in O6-methylguanine-induced apoptosis, 3rd ASM Conference on DNA Repair and Mutagenesis, 2009. 06. 01.
- 22) J. Piao, T. Isoda, Y. Nakatsu, K. Sakumi, Y. Nakabeppu and T. Tsuzuki, Susceptibility of various types of DNA repair-deficient mice to intestinal tumorigenesis induced by potassium bromate, 2nd Asian Congress of Radiation Research (ACRR 2009), 2009. 05. 18.
- 23) T. Nohmi, Possible mechanisms underlying practical threshold for genotoxic carcinogens, The 10th International Conference on Environmental Mutagens (10th ICEM), Firenze, Italy (2009. 8)
- 24) Y. Totsuka, T. Nohmi, S. Kato, S. Masuda, N. Kinoshita, M. Kawanishi, T. Yagi, T. Sugimura and K. Wakabayashi, Genotoxicity of nanoparticles in *in vitro* micronuclei, *in vivo* comet and

- mutation assay systems, The 10th International Conference on Environmental Mutagens (10th ICEM), Firenze, Italy (2009. 8)
- 25) K. Masumura, N. Toyoda-Hokaiwado, T. Inoue, T. Umemura, A. Nishikawa, T. Nohmi, *In vivo* mutagenicity of structural isomers 2,4-DAT and 2,6-DAT in the target organ for carcinogenicity in F344 *gpt* delta transgenic rat, The 10th International Conference on Environmental Mutagens (10th ICEM), Firenze, Italy (2009. 8)
- 26) Y. Totsuka, T. Imai, A. Nishikawa, T. Nohmi, M. Kawanishi, T. Yagi, T. Ichinose, T. Sugimura, K. Wakabayashi, Genotoxicity of nanoparticles in *in vitro* micronuclei, *in vivo* comet and mutation assay systems, The 68th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association (2009. 10)
- 27) Y. Suzuki, T. Okamura, D. Hibi, Y. Ishii, M. Jin, T. Umemura, T. Nohmi, A. Nishikawa, Combined effects of food-derived CYP1A2 inducers on *in vivo* mutagenicity of IQ, The 68th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association (2009. 10)
- 28) T. Inoue, M. Tasaki, Y. Ishii, T. Okamura, Y. Suzuki, M. Jin, D. Hibi, T. Nohmi, T. Umemura, A. Nishikawa, Lack of *in vivo* mutagenicity and tumor-promotion activity in the livers of rats treated with tocotrienol, The 68th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association (2009. 10)
- 29) M. Yamada and T. Nohmi, Screening of endogenous mutagens using YG3206, modified Ames tester strain, The 68th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association (2009. 10)
- 30) N. Toyoda, T. Inoue, K. Masumura, T. Umemura, A. Nishikawa, T. Nohmi, The aromatic amine 2,4-DAT induced point mutations in the target organ of carcinogenicity in F344 *gpt* delta rat, The 68th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association (2009. 10)
- 31) T. Umemura, Y. Ishii, T. Inoue, M. Jin, Y. Suzuki, D. Hibi, Y. Kodama, T. Nohmi, A. Nishikawa, Facilitative effects of simultaneous administration of flumequine on *in vivo* mutagenicity of MeIQx, The 68th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association (2009. 10)
- 32) R. Ohta, H. Sui, T. Shiragiku, A. Akahori, M. Nakajima, H. Hayashi, K. Masumura, T. Nohmi, Collaborative study of the *gpt* delta transgenic rat mutation assays: 1) Distinguishable of hepatic carcinogens from a non-carcinogen, The 38th Annual Meeting of the Japanese Environmental Mutagen Society (38th JEMS) (2009. 11)
- 33) O. Tajima, S. Yamada, Y. Kawamura, H. Hayashi, T. Takayanagi, H. Hori, W. Fujii, K. Masumura, T. Nohmi, Collaborative study of the *gpt* delta transgenic rat mutation assays: 2) Evaluation of genotoxicity of aristolochic acid, The 38th Annual Meeting of the Japanese Environmental Mutagen Society (38th JEMS) (2009. 11)

- 34) T. Noguchi, T. Kamigaito, K. Narumi, R. Takashima, S. Hamada, H. Sanada, K. Masumura, M. Hasuko, T. Nohmi, Collaborative study of the *gpt* delta transgenic rat mutation assays: 3) Evaluation of genotoxicity of Nickel subsulfide by intratracheal instillation, The 38th Annual Meeting of the Japanese Environmental Mutagen Society (38th JEMS) (2009. 11)
- 35) H. Sui, K. Kawakami, N. Sakurai, H. Okutomi, R. Ohta and T. Nohmi, Further improvement of high-throughput fluctuation Ames test (Part V), The 38th Annual Meeting of the Japanese Environmental Mutagen Society (38th JEMS) (2009. 11)
- 36) Y. Matsumoto, Y. Totsuka, S. Masuda, T. Kato, T. Nohmi, S. Goto, T. Sugimura, K. Wakabayashi, *In vivo* genotoxicity induced by nanoparticles, The 38th Annual Meeting of the Japanese Environmental Mutagen Society (38th JEMS) (2009. 11)
- 37) H. Ide, A. Salem, T. Nakano, M. Takuwa, H. Terato, K. Yamamoto, M. Yamada and T. Nohmi, Genetic analysis of repair and damage tolerance mechanisms for DNA-protein crosslinks, The 38th Annual Meeting of the Japanese Environmental Mutagen Society (38th JEMS) (2009. 11)
- 38) P. Gruz, M. Takamune, M. Yamada and T. Nohmi, Detection of UV-mutagenesis in umuDC-deficient strain of *Escherichia coli* expressing human DNA polymerase η , The 38th Annual Meeting of the Japanese Environmental Mutagen Society (38th JEMS) (2009. 11)
- 39) K. Masumura, T. Nohmi, Inserted position of lambda EG10 transgene on *gpt* delta transgenic mouse genome, The 38th Annual Meeting of the Japanese Environmental Mutagen Society (38th JEMS) (2009. 11)
- 40) AM. Salem, T. Nakano, M. Takuwa, H. Terato, K. Yamamoto, M. Yamada, T. Nohmi and H. Ide, Repair and damage tolerance mechanisms for DNA-protein crosslinks in *Escherichia coli*, The 52nd Annual Meeting of the Japan Radiation Research Society (2009. 11)
- 41) A. Katafuchi, A. Sassa, P. Gruz H. Fujimoto, C. Masutani, F. Hanaoka and T. Nohmi, The activity of 8-oxo-dGTP incorporation of human DNA polymerase η and κ , The 52nd Annual Meeting of the Japan Radiation Research Society (2009. 11)
- 42) N. Niimi, S. Iizumi, N. Adachi, H. Koyama and T. Nohmi, Roles of DNA polymerase kappa in UV- and chemically-induced mutagenesis in human cells, The 32nd Annual meeting of the Molecular Biology Society of Japan. (2009. 12)
- 43) T. Nohmi, Development and validation of *in vivo* genotoxicity assay using transgenic animals, Special lecture I, The 26th Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicologic Pathology (2010. 2)
- 44) N. Toyoda-Hokaiwado, Y. Yasui, M. Muramatsu, K. Masumura, T. Tanaka and T. Nohmi, Chemopreventive effects of capsaicin and silymarin in F344 *gpt* delta transgenic rat, The 26th Annual