

遺伝毒性と発がん性を包括的に評価できる中期肝発がんリスク評価系の開発に関する研究

研究分担者： 魏 民 大阪市立大学大学院医学研究科 准教授

研究要旨

化学物質の遺伝毒性と発がん性を包括的に検出可能な新しい中期肝発がんリスク評価法の開発を目的とし、既知遺伝毒性肝発がん物質である 2-acetylaminofluorene (2-AAF) を用いて、*in vivo* 変異原性の検索が可能な *gpt delta* ラットを用いた中期肝発がん性試験法の有用性を検討した。その結果、肝臓における前がん病変マーカーである GST-P 陽性細胞巢の数および面積が対照群に比較して 2-AAF 投与群で有意に増加し、2-AAF の肝発がん促進作用が認められた。また、*gpt* アッセイと Spi アッセイでは対照群に比較して 2-AAF 投与群で点突然変異頻度および欠失変異頻度の有意な増加が認められ、2-AAF の *in vivo* 変異原性が確認された。これらの結果がこれまでの 2-AAF の肝発がん性および変異原性に関する報告と一致しており、*gpt delta* ラットを用いた中期肝発がん性試験法は化学物質の肝発がん性と *in vivo* 変異原性を包括的に検出できる発がんリスク評価法として有用であることが示唆された。

また、印刷工場における職業性胆管がんの原因物質として疑われている dichloromethane (DCM) 及び dichloropropane (DCP) について、雄性 B6C3F1 マウスおよび雄性シリアンハムスターを用いた短期毒性試験を行った。B6C3F1 マウスおよびシリアンハムスターに DCM および DCP を 500 mg/kg BW の用量で 1 日 1 回、3 日間強制胃内投与した結果、マウスおよびハムスターの DCM 投与群で異常所見は認められなかった。DCP 投与群では、マウスの 5 例中 4 例に、ハムスターの 5 例中全例に小葉中心性肝細胞壊死が認められたが、いずれの群においても胆管上皮毒性は認められなかった。DCM の代謝酵素である GSTT1 の免疫組織化学染色解析の結果、マウスの肝細胞および胆管上皮の細胞質で GSTT1 の発現が認められたが、DCM および DCP 投与による発現増強は認められなかった。一方、ハムスターでは、胆管上皮細胞では GSTT1 の発現は認められず、投与による発現変動は認められなかったが、肝細胞における GSTT1 発現において、DCP 投与群においてのみ明らかな増強が認められた。以上より、マウスおよびハムスターにおいて、DCP の肝毒性が明らかとなった。さらに、ヒトと異なって、ハムスターの胆管上皮細胞には GSTT1 が発現していない可能性が示唆された。本実験は DCM および DCP の胆管発がんリスク評価モデルの開発に有用な基礎データを提供できたものと考えられる。

A. 研究目的

化学物質の安全性を評価するためには、発がん性と変異原性の評価は必要不可欠である。しかし、現行の発がん性試験法と変異原性試験法にはそれぞれ問題点が存在している。標準の発がん性評価法の問題点として、動物試験だけでも 2 年間という長期的検討が必要であることと、莫大な経費および多数の動物数を要するため、多くの化学物質に対応することが困難であることなどがあげられる。一方、変異原性は *in vitro* 変異原性試験により決められてきたが、*in vitro* での試験が臓器特異性や代謝能を反映していないことが原因となって判定結果の不確実性を生じていることも事実であり、化学物質の変異原性を評価するためには *in vivo* 検出系が必要であると考えられる。よって、安全性評価に適した期間でかつ発がん性および遺伝毒性を包括的に評価できる試験法の確立が待たれている。そこで、本研究では、化学物質の遺伝毒性と発がん性を包括的に検出可能な新しい中期肝発がんリスク評価法の開発を目的とし、既知遺

伝毒性肝発がん物質を用いて、*in vivo* 変異原性の検索が可能な F344 系 *gpt delta* ラット（以下 *gpt delta* ラットと略す）を用いた中期肝発がん性試験法（伊東法）の発がん性および変異原性の包括評価における有用性を検討する。本年度では、遺伝毒性肝発がん物質である 2-acetylaminofluorene (2-AAF) を用いて *gpt delta* ラットおよびその野生型であり、発がん性試験に汎用されている F344 ラットにおける肝発がん感受性を比較検討した。さらに、*gpt delta* ラットにおいて *in vivo* 変異原性試験である *gpt* アッセイと Spi アッセイを施行し、2-AAF の変異原性を検討した。

近年、大阪の印刷工場労働者において胆管がんが多発しており、既知の胆管がん発症機序であるウイルス感染、膵・胆管合流異常、結石や肝吸虫による発がん機序と異なる化学物質による発がん機序の可能性が示唆されている。現在、dichloromethane (DCM) 及び dichloropropane (DCP) などを含む有機溶剤への高濃度・長期間曝露が胆

管がん発症の原因として疑われている。しかし、マウスおよびラットを用いた動物発がんモデルにおいて DCM および DCP の化合物の胆管発がん性は認められていない。DCM の代謝経路は、げっ歯類およびヒトで 2 種類あることが知られている。一つは CYP2E1 による酸化代謝経路であり、もう一つは GSTT1 によるグルタチオン抱合経路である。しかし、DCM のばく露による肝臓におけるこれらの代謝酵素の発現量の変動に関する報告はほとんどない。DCP に関しては、P450 酵素及び GST を介して代謝活性を受けることが示唆されたが、その詳細に関する報告はまたなされていない。そこで、本研究では、B6C3F1 マウス及びシリアンハムスターに DCM および DCP の短期経口投与を行い、これらの化学物質の肝・胆道系および代謝活性化酵素に及ぼす影響を検討した。

B. 研究方法

1. 遺伝毒性と発がん性を包括的に検出できる肝発がんリスク評価法の開発

5 週齢の雄性 *gpt delta* ラット 30 匹および雄性 F344 ラット 20 匹（日本エスエルシー株式会社）を用いた。実験動物納入より 7 日間は、環境に適応させる期間とし、8 日目より実験を開始した。その間の飲料水は水道水とし、基礎飼料として MF 粉末（オリエンタル酵母）を使用した。動物の飼育は大阪市立大学大学院医学研究科動物実験施設の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 $50 \pm 10\%$ 、12 時間蛍光灯照明、12 時間消灯の条件下で行った。

実験プロトコルを図 1 に示す。第 1、2、5 および 6 群は *gpt delta* ラット 10 又は 5 匹ずつ、第 3 および第 4 群は F344 ラット 10 匹ずつ分けた。第 1 群から第 4 群に実験開始日に diethylnitrosamine（東京化成、以下 DEN と略記）を 200 mg/kg の用量で単回腹腔内投与し、2 週間後より 0 あるいは 50 ppm の 2-AAF 添加飼料を 6 週間与えた。さらに、実験開始 3 週目に 2/3 部分肝切除を行った。第 5 および 6 群には実験開始後 2 週間は基礎飼料を与え、その後 0 あるいは 50 ppm の 2-AAF 添加飼料を 6 週間与えた。なお、第 5 および 6 群には 2/3 部分肝切除を行わなかった。

全動物は、一般状態を毎日観察し、週 1 回体重、飲水量および摂餌量を測定した。実験開始より 8 週間後に、全動物を麻酔下で、腹部大動脈から採血後に脱血致死させ、屠殺・剖検を行い、肝臓を摘出し、重量を測定した。全群において肝臓のホルマリン固定パラフィン標本作製し、病理組織学的検討ならびに胎盤型 Glutathione S-transferase (GST-P) の免疫組織化学的検討を行った。GST-P 陽性細胞巢の個数および面積を病理標本画像解析装置 IPAP-WIN [住化テクノサービス株式会社] を用いて計測し、肝臓切片 1cm^2 当りの GST-P 陽性細胞巢（直径 0.2mm

以上）の個数および面積を算出し、定量的解析を行った。また、*gpt delta* ラット群においては、点突然変異を検出する *gpt* アッセイ および欠失変異を検出する Spi-アッセイを行った。

gpt アッセイでは、肝臓凍結組織から RecoverEase™ DNA Isolation Kit を用いて DNA を抽出する。*in vivo* パッケージングには、Transpack Packaging Extract を用いて、抽出した DNA からトランスジーン EG10 をファージ粒子として回収した。Cre 組み換え酵素を発現している大腸菌 YG6020 株の菌液に回収したファージを加え、37 20min（静置）の後、37 20min（振とう）にて回収ファージを大腸菌 YG6020 株に感染させた。感染後の YG6020 菌液を 6-TG と chloramphenicol (Cm) を含む M9 寒天培地にまいて 37 で 2 日間培養行い、*gpt* 遺伝子が不活化している変異体のコロニーを得た。また、感染ファージ由来のプラスミドによる形質転換コロニー数は 6-TG を含まない M9 寒天培地にまいて生じたコロニー数によって求めた。突然変異数は、6-TG を含む寒天培地にまいて生じたコロニー数から、感染ファージ由来のプラスミドによる形質転換コロニー数で除して算出した。

Spi-アッセイでは、*in vivo* パッケージングによりファージを回収するまでの手法は *gpt* アッセイと同様に行った。P2 溶原菌に回収したファージを加え、37 20min（静置）により回収したファージを P2 溶原菌に感染させた後、トリプティケース寒天培地にまいて 37 で一晩培養し、Spi 変異体プラークを得た。また、非溶原菌に感染させ、全ファージが溶菌してプラーク作ることにより回収プラーク数を求めた。突然変異体頻度は変異プラーク数を回収ファージ数で除して算出した。

2. DCM 及び DCP のマウスおよびハムスターの肝胆道系に及ぼす影響の検討

被検物質として DCM（和光純薬、純度 > 99.5%）、および DCP（和光純薬、1,2-dichloropropane dichloromethane、以下 DCP と略記、純度：> 98%）を使用した。

7 週齢雄性シリアンハムスター 15 匹を日本エスエルシー株式会社より購入した。7 週齢雄性 B6C3F1 マウス 15 匹を日本チャールス・リバー株式会社より購入した。マウスとハムスターとも、1 週間の馴化飼育の後、各群 5 匹ずつ 3 群に分けた。被検物質投与群にそれぞれに DCM または DCP を 500 mg/kg bw の用量で 1 日 1 回、3 日間強制胃内投与を行った。溶媒対照群にはコーン油（和光純薬）を投与した。投与液量は、3ml/kg bw とし、投与直前に測定した体重を基に算出した。全動物は、一般状態を毎日観察し、体重、飲水量および摂餌量を測定した。実験開始より 3 日間後に、全動物を麻酔下で、腹部大動脈から採血後に脱血致死させ、屠殺・剖検を行い、肝臓を摘出し、重量を測定した。全群において肝臓

のホルマリン固定パラフィン標本を作製し、病理組織学的検討ならびに Glutathione S-transferase T1(GSTT1)の免疫組織化学的検討を行った。また、マウスの肝臓凍結サンプルから RNA を抽出し、quantitative RT-PCR を用いて薬物代謝酵素であるシトクローム P450 1-4 各分子種の mRNA 発現を検討した。

4. 統計学的解析

体重、摂餌量、臓器重量、GST-P 陽性細胞巢の個数および面積、遺伝子の変異頻度および P450 各分子種の発現量の平均値について F 検定による等分散検定を行う。等分散の場合は Student's t-test 検定を行い、不等分散の場合は Welch t-test 法による両側検定を行う。

5. 倫理面への配慮

動物実験は大阪市立大学大学院医学研究科動物実験施設において行われ、動物実験の開始前には実験計画書を大阪市立大学実験動物委員会に提出し、その承諾を得た上で動物実験取り扱い規約に基づき、動物を飼育した。屠殺は動物に苦痛を与えないために麻酔下にて実施する。

C. 研究結果

1. 遺伝毒性と発がん性を包括的に検出できる肝発がんリスク評価法の開発

1.1 一般状態

実験期間中、第 1 群で 1 匹、第 3 群で 1 匹、第 4 群で 2 匹、部分肝切除の影響により死亡した。2-AAF 投与に関連した一般状態への影響は認められなかった。

1.2 最終体重、肝臓重量および 2-AAF 摂取量

最終体重、肝臓重量および 2-AAF 摂取量を表 1 に示す。最終体重について、部分肝切除実施群(第 1~4 群)において、F344 ラットおよび *gpt delta* ラットともに対照群(第 1,3 群)と比較して 2-AAF 投与群(第 2, 4 群)で有意な体重減少が認められた。しかし、*gpt delta* ラット 2-AAF 単独投与群(第 6 群)では、無処置群(第 5 群)と比較して有意な変化は認められなかった。

肝臓重量について評価した結果、部分肝切除実施群において、F344 ラットおよび *gpt delta* ラットともに、対照群と比較して 2-AAF 投与群で有意な肝臓の絶対・相対重量の増加が認められた。また、F344 ラット、*gpt delta* ラット間で有意な変化は認められなかった。一方、*gpt delta* ラット 2-AAF 単独投与群において無処置群と比較した結果、肝臓の絶対・相対重量の増加傾向がみられた。

実験期間中における 1 日あたりの平均 2-AAF 摂取量について、ラットにおける体重当たりの 1 日平均

摂取量 (mg/kg b.w./day) は、第 2 群では 15.04 mg、第 4 群では 13.88 mg であり、F344 ラットと *gpt delta* ラット間で 2-AAF の摂取量に有意な差はなかった。また、第 6 群(*gpt delta* ラット)では 16.28 mg であった。

1.3 GST-P 陽性細胞巢の定量解析

GST-P 陽性細胞巢(直径 0.2mm 以上)の肝臓切片の総面積あたりの発生個数ならびに面積について評価した結果を図 2 に示す。F344 ラットおよび *gpt delta* ラットにおいて、部分肝切除実施群では対照群と比較して、2-AAF 投与群で GST-P 陽性細胞巢の発生個数および面積の有意な増加が認められた。また *gpt delta* ラット、F344 ラット間で有意な差は認められなかった。

無処置群および 2-AAF 単独投与群(いずれも *gpt delta* ラット)では GST-P 陽性細胞巢(直径 0.2 mm 以上)が認められなかったが、GST-P 陽性の細胞数について比較を行った結果、2-AAF 投与によって有意な GST-P 陽性細胞の増加が認められた。

1.4 *gpt* アッセイ

肝臓における *gpt* 遺伝子の変異体頻度を表 2 に示す。部分肝切除実施群において、対照群($455.6 \pm 111.8 \times 10^{-6}$)と比較して、2-AAF 投与群($973.1 \pm 232.8 \times 10^{-6}$)で有意な変異体頻度の増加が認められた。また 2-AAF 単独投与群($11.4 \pm 2.8 \times 10^{-6}$)について無処置群($67.9 \pm 35.6 \times 10^{-6}$)と比較した結果、有意な変異体頻度の増加が認められた。

1.5 Spi-アッセイ

肝臓における red/gam 遺伝子の変異体頻度を表 3 に示す。部分肝切除実施群において、対照群($141.4 \pm 39.8 \times 10^{-6}$)と比較して、2-AAF 投与群($259.4 \pm 68.7 \times 10^{-6}$)で有意な変異体頻度の増加が認められた。また 2-AAF 単独投与群($9.6 \pm 5.9 \times 10^{-6}$)について無処置群($79.7 \pm 22.9 \times 10^{-6}$)と比較した結果、有意な変異体頻度の増加が認められた。

2 DCM および DCP のマウスおよびハムスターの肝胆道系に及ぼす影響の検討

2.1 一般状態

最終体重、生存率、絶対および相対肝重量を表 4 に示す。マウスの DCM 投与群で死亡例は認められなかったが、DCP 投与群で実験開始後の 2 日目に 1 例死亡が認められた。最終体重、絶対および相対肝重量が各投与群の間に有意な差は認められなかった。

ハムスターにおいて、DCP 投与群で実験開始後の 3 日目に 1 例死亡が認められた。最終体重が対照群に比較して DCM 投与群で有意な差は認められなかったが、DCP 投与群で有意に低下した。絶対および相対肝重量が各群の間に有意な差は認められなかった。

2.2. 肝臓における病理学的所見

マウスにおいて、DCM 投与群で異常所見は認められなかった。DCP 投与群では、5 例中 4 例に小葉中心性肝細胞壊死が認められたが、胆管上皮には投与による変化は認められなかった(表 5、図 3)。

ハムスターにおいて、DCM 投与群の異常所見は認められなかった。DCP 投与群では、5 例中全例に肝臓の小葉中心性壊死が認められた。しかし、胆管上皮には投与による変化は認められなかった(表 5、図 4)。

2.3. 肝臓における GSTT1 の発現

マウスの肝細胞および胆管上皮の細胞質で GST-T1 の発現が認められた。DCM および DCP 投与群で対照群と比較して、GSTT1 の発現の増強は認められなかった(表 5、図 5)。

ハムスターの肝臓においては、肝細胞の細胞質に GSTT1 の発現が認められ、その発現が対照群と比較して DCM 投与で変化は認められなかったが、DCP 投与群では明らかな増強が認められた。一方、胆管上皮細胞ではいずれの群においても GSTT1 の発現は認められなかった(表 5、図 6)。

2.4. マウス肝臓における各 P450 分子種の mRNA 発現

マウス肝臓における CYP1A1、CYP1A2、CYP2A4、CYP2C29、CYP2E1、CYP3A11、CYP4A10、CYP4A14 の発現を図 7 に示す。DCM 投与群で対照群と比較していずれの P450 分子種においても、有意な差は認められなかった。DCP 投与群で肝細胞壊死が高頻度に認められたため、P450 の mRNA 発現の解析は行わなかった。

D. 考察

gpt delta ラットを用いて 2-AAF の肝発がん性を検討した結果、ラット肝前がん病変マーカーである GST-P 陽性細胞巢の数および面積が対照群と比較して 2-AAF 投与群で有意に増加し、2-AAF の肝発がん促進作用が認められた。また、*gpt* アッセイと Spi アッセイでは対照群と比較して 2-AAF 投与群で点突然変異頻度および欠失変異頻度の有意な増加が認められ、2-AAF の *in vivo* 変異原性が確認された。これらの結果がこれまでの 2-AAF の肝発がん性および変異原性に関する報告と一致しており、*gpt delta* ラットを用いた中期肝発がん性試験法は化学物質の肝発がん性と *in vivo* 変異原性を包括的に検出できる発がんリスク評価法として有用であることが示唆された。今後、本試験法の有用性をさらに検証するために、種々の肝発がん物質を検討する必要があると考えられる。

DCM および DCP のマウス肝・胆道系に及ぼす影響を検討した実験で、DCM 投与群で毒性変化が認められなかったことに対して、同投与量の DCP 投与群では高頻度に肝細胞壊死が認められたことから、DCM よ

り DCP の肝毒性が強いことが明らかとなった。また、免疫組織化学染色解析により、ヒトと同様にマウスの肝細胞および胆管上皮の細胞質に GSTT1 が発現することが明らかとなった。しかし、いずれの投与群においても、投与による GSTT1 発現の増強および肝内胆管上皮傷害が認められなかった。また、DCM 投与による CYP2E1 を含める各 P450 酵素分子種の mRNA レベルの発現上昇は認められなかった。一般的に、DCM および DCP の代謝は、低濃度ばく露の場合は CYP 経路で行われるが、高濃度ばく露になると、CYP 経路による代謝が飽和するため、GST 経路が活性化し、GST 経路による代謝が行われるとされている。さらに、GST による代謝活性化を受けた究極発がん物質をイニシエーターとしたこの 2 物質の化学発がん機序にかが推測される。したがって、今後、より長期間の投与試験を行うことにより、DCP および DCM による代謝酵素誘導および肝・胆管系障害の用量相関性を明らかにする必要があると考えられる。さらに、CYP2E1 欠損マウスを用いて DCP および DCM の胆道系に対する毒性を検討する必要があると考えられた。

ハムスターにおいて、DCM 投与群で毒性変化が認められなかったことに対して、同投与量の DCP 投与群では高頻度に肝細胞壊死が認められたことから、マウスと同様に DCM より DCP の肝毒性が強いことが明らかとなった。また、免疫組織化学染色解析では、DCP 投与群で肝細胞における GSTT1 の発現が対照群と比較して増強されてことから、GSTT1 が DCP の代謝に関与することが強く示唆された。一方、本試験条件下では、DCM による GSTT1 発現の増強が認められなかったため、ハムスターにおいては GSTT1 が DCM の代謝に関与するか否かを明らかにするためには、より長期間の投与による検討が必要と考えられる。また、今後 CYP2E1 を含めた P450 酵素の発現を検討する必要もあると考えられる。さらに、今回の検討では、ヒトと異なって、ハムスターの胆管上皮細胞には GSTT1 の発現は認められないことが判明した。したがって、ハムスターを用いた実験で得られた DCM および DCP の胆管発がん性に関する結果をヒトに外挿する際に、GSTT1 の局在の違いによる影響を考察する必要がある。

E. 結論

in vivo 変異原性の検索が可能な *gpt delta* ラットを用いた中期肝発がん性試験では、遺伝毒性肝発がん物質である 2-AAF の肝発がん性および変異原性が認められたことから、本試験法が化学物質の遺伝毒性と発がん性を包括的に検出可能な新しい中期肝発がんリスク評価法として有用であることが示唆された。

DCM および DCP のマウスおよびハムスターの肝・胆道系に及ぼす影響を検討した実験で、マウスおよびハムスターにおいては、DCM より DCP の肝毒性が強いことが明らかとなった。さらに、ヒ

トと異なって、ハムスターの胆管上皮細胞にはDCMおよびDCPの代謝酵素であるGSTT1が発現しない可能性が示唆された。本実験はDCMおよびDCPの胆管発がんリスク評価モデルの開発に有用な基礎データを提供できたものと考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

Kato M, Wei M, Yamano S, Kakehashi A, Tamada S, Nakatani T, Wanibuchi H. DDX39 acts as a suppressor of invasion for bladder cancer. *Cancer Sci*, 103, 1363-1369, doi: 10.1111/j.1349-7006.2012.

Wei M, Kakehashi A, Yamano S, Tamano S, Shirai T, Wanibuchi H, Fukushima S.: Lack of Hepatocarcinogenicity of Combinations of Low Doses of 2-amino-3, 8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline and Diethylnitrosamine in Rats: Indication for the Existence of a Threshold for Genotoxic Carcinogens. *J Toxicol Pathol*, 25, 209-214, 2012.

Xie XL, Wei M, Yunoki T, Kakehashi A, Yamano S, Kato M, Wanibuchi H.: Long-term treatment with l-isoleucine or l-leucine in AIN-93G diet has promoting effects on rat bladder carcinogenesis. *Food Chem Toxicol*, 50, 3934-3940, doi: 10.1016/j.fct.2012.07.063. 2012.

Xie XL, Wei M, Kakehashi A, Yamano S, Okabe K, Tajiri M, Wanibuchi H.: Dammar resin, a non-mutagen, induces oxidative stress and metabolic enzymes in the liver of gpt delta transgenic mouse which is different from a mutagen, 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline. *Mutat Res*, 748, 29-35, 2012.

Chung K, Nishiyama N, Wanibuchi H, Yamano S, Hanada S, Wei M, Suehiro S, Kakehashi A.: AGR2 as a potential biomarker of human lung adenocarcinoma. *Osaka City Med J*, 58, 13-24, 2012.

2. 学会発表

梯アンナ、謝 曉利、山野莊太郎、魏 民、鰐淵英機：ヒト肝臓癌のプロテオーム解析を用いた新規バイオマーカー候補分子の検討。第101回日本病理学会総会，東京（2012年4月）

Okabe K, Yamano S, Wei M, Kato M, Fujioka M, Xie X, Wanibuchi H. Identification of novel biomarkers of rat renal carcinogenesis. Society of Toxicologic Pathology 31st Annual Symposium, Boston(2012年6月)

Wanibuchi H, Wei M, Kakehashi A, Yamano S: Animal model for arsenic carcinogen. The 6th International Congress of Asian Society of Toxicology, 仙台（2012年7月）

藤岡正喜、魏 民、山野莊太郎、岡部恭子、奥村真衣、鰐淵英機：gpt delta ラットを用いた遺伝毒性・発がん性の包括的リスク評価モデルの確立。第27回発癌病理研究会，伊豆（2012年8月）

山野莊太郎、魏 民、田尻正喜、梯アンナ、岡部恭子、奥村真衣、多胡善幸、鰐淵英機：マウス肺扁平上皮癌の発がん過程早期における気管支肺胞幹細胞の関与。第71回日本癌学会学術総会，札幌（2012年9月）

藤岡正喜、魏 民、山野莊太郎、岡部恭子、奥村真衣、武下正憲、鰐淵英機：gpt delta ラットを用いた膀胱粘膜における in vivo 変異原性の評価法の確立。第71回日本癌学会学術総会，札幌（2012年9月）

小松弘明、西山典利、山野莊太郎、花田庄司、井上英俊、梯アンナ、魏 民、鰐淵英機：プロテオーム解析による新規肺神経内分泌癌のバイオマーカー検索。第71回日本癌学会学術総会，札幌（2012年9月）

桑江優子、梯アンナ、魏 民、若狭研一、鰐淵英機：FFPE 標本を用いたヒト浸潤性膵管癌のプロテオーム解析。第71回日本癌学会学術総会，札幌（2012年9月）

岡部恭子、山野莊太郎、魏 民、加藤 実、田尻正喜、謝 曉利、鰐淵英機：マウス肺発がん過程におけるロサルタンの修飾作用の検討。第71回日本癌学会学術総会，札幌（2012年9月）

梯アンナ、桑江優子、山野莊太郎、魏 民、謝 曉利、若狭研一、鰐淵英機：ヒト幹細胞癌における特異的候補分子のピンポイントターゲティング。第71回日本癌学会学術総会，札幌（2012年9月）

加藤 実、魏 民、田尻正喜、山野莊太郎、梯アンナ、仲谷達也、鰐淵英機：Steroid Sulfatase は膀胱癌の予後予測因子である。第71回日本癌学会学術総会，札幌（2012年9月）

魏 民、山野莊太郎、加藤 実、梯アンナ、神吉将之、謝 曉利、鰐淵英機：BBN 誘発マウス膀胱発がん過程におけるがん幹細胞関連タンパク質の発現。第71回日本癌学会学術総会，札幌（2012年9月）

魏 民、山野莊太郎、加藤 実、藤岡正喜、梯アンナ、神吉将之、鰐淵英機：膀胱発がん物質の早期検出 microRNA マーカーの検討。第29回日本毒性病理学会総会及び学術集会，つくば（2013年1月）

神吉将之、魏 民、梯アンナ、山野莊太郎、鰐淵英

機：ラットにおける非遺伝毒性肝発がん物質と毒性フェノタイプを予測できる遺伝子マーカーセットの探索．第 29 回日本毒性病理学会総会及び学術集会，つくば（2013 年 1 月）

奥村真衣、魏 民、山野莊太郎、藤岡正喜、多胡善幸、北野光昭、鰐淵英機：gpt delta ラットを用いた 2-AAF の肝発がん性および変異原性の包括的評価モデルの検討．第 29 回日本毒性病理学会総会及び学術集会，つくば（2013 年 1 月）

山野莊太郎、魏 民、藤岡正喜、梯アンナ、岡部恭子、武下正憲、鰐淵英機：マウス肺扁平上皮癌モデルにおける気管支肺胞幹細胞の cancer initiating cell としての可能性．第 29 回日本毒性病理学会総会及び学術集会，つくば（2013 年 2 月）

梯アンナ、萩原昭裕、今井則夫、魏 民、長野嘉介、福島昭治、鰐淵英機：ラットにおける 2-エトキシ-2-メチルプロパンの肝臓発腫瘍性機序の解明．第 29 回日本毒性病理学会総会及び学術集会，つくば（2013 年 1 月）

岡部恭子、山野莊太郎、魏 民、藤岡正喜、謝 暁利、串田昌彦、鰐淵英機：マウス肺発がん過程におけるロサルタンの修飾作用の検討．第 29 回日本毒性病理学会総会及び学術集会，つくば（2013 年 1 月）

藤岡正喜、魏 民、山野莊太郎、岡部恭子、福永賢輝、謝 暁利、鰐淵英機：ラット膀胱発がん物質 DMA(V) の in vivo 変異原性の検討．第 29 回日本毒性病理学会総会及び学術集会，つくば（2013 年 2 月）

魏 民、山野莊太郎、加藤 実、梯アンナ、鰐淵英機：膀胱発がん物質の早期検出 microRNA マーカーの検討．平成 24 年度個体レベルでのがん研究支援活動ワークショップ，大津（2013 年 2 月）

山野莊太郎、岡部恭子、梯アンナ、魏 民、鰐淵英機：ラット腎発がんにおける NADPH oxidase 阻害による効果．平成 24 年度個体レベルでのがん研究支援活動ワークショップ，大津（2013 年 2 月）

G . 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