

た。

E. 結論

肝臓における遺伝毒性・発がん性の中期包括的試験法として、*gpt delta* ラットを用いた *in vivo* 変異原性および発がん性を同時に検出可能な新規肝中期発がん性試験法の開発を目指し、種々の既知発がん物質を改良プロトコールによる新規試験法に適用して検証した結果、その有用性が証明された。さらに、本試験法においては *in vivo* 変異原性およびプロモーション活性の評価に加え、発がんに関連する種々のパラメータを追加検索することにより、より詳細な発がん機序の考察が可能となることが考えられた。また、本試験法は潜在性発がん物質の検出にも有用であることが示された。

腎臓における遺伝毒性・発がん性の中期包括的試験法として、*gpt delta* ラットを用いた *in vivo* 変異原性および発がん性を同時に検出可能な新規試験法の開発を目指し、種々の既知発がん物質を標準プロトコールによる新試験法に適用して検証した結果、その有用性が証明された。さらに、本試験法においては *in vivo* 変異原性および発がんプロモーション活性の評価に加え、発がんに関連する種々のパラメータを追加検索することにより、より詳細な発がん機序の考察が可能となることが考えられた。また $\alpha_2\text{-globulin}$ 腎症を介した発がん機序はヒトへの外挿性はないため、雌ラットを用いる本試験法ではこの偽陽性結果を回避できることも示された。

2-MF は、基本骨格であるフランと同様に肝毒性を示し、肝発がん性を示唆する変化が認められたが、肝臓のレポーター遺伝

子変異原性試験は陰性であった。また、フランの肝臓におけるレポーター遺伝子変異原性は陰性であり、また肝細胞を用いた *in vivo* 小核試験も陰性であった。従って、フラン骨格化合物によるラット肝発がん過程において、遺伝毒性メカニズムが関与している可能性は低いと考えられた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究成果

G-1. 学会発表

1. 松下幸平、木島綾希、石井雄二、高須伸二、金美蘭、黒田顕、増井則夫、能美健彦、小川久美子、西川秋佳、梅村隆志：レポーター遺伝子導入ラットを用いた短期発がん物質検出モデルの開発。日本毒性学会第 39 回大会（仙台，2012. 07）
2. 松下幸平、石井雄二、高須伸二、黒田顕、木島綾希、能美健彦、小川久美子、梅村隆志：*gpt delta* ラットを用いた短期発がん物質検出モデルの開発。日本毒性病理学会第 29 回大会（つくば，2013. 01-02）
3. Kohei Matsushita, Yuji Ishii, Shinji Takasu, Ken Kuroda, Aki Kijima, Takehiko Nohmi, Kumiko Ogawa, Akiyoshi Nishikawa, Takashi Umemura: A medium-term animal model using *gpt delta* rats for predicting chemical carcinogenicity and related mechanisms of action. SOT 2013 (San Antonio, 2013. 03)
4. 松下幸平、石井雄二、高須伸二、黒田

- 頭、木島綾希、能美健彦、小川久美子、梅村隆志：レポーター遺伝子導入ラットを用いた短期腎発がん物質検出モデルの開発。日本毒性学会第40回大会（幕張, 2013.06）
5. 黒田 頭、石井雄二、高須伸二、木島綾希、松下幸平、能美健彦、小川久美子、梅村隆志。2-メチルフランの *gpt delta* ラットを用いた一般毒性・遺伝毒性・発がん性の包括的評価。日本環境変異原学会第42回大会（岡山、2013.11）。
- G-2. 発表論文
1. Akagi J, Toyoda T, Cho YM, Mizuta Y, Nohmi T, Nishikawa A, Ogawa K. Validation study of the combined repeated-dose toxicity and genotoxicity assay using *gpt delta* rats. *Cancer Sci.* 2015;106 (5): 529-541.
 2. Matsushita K, Ishii Y, Takasu S, Kuroda K, Kijima A, Tsuchiya T, Kawaguchi H, Miyoshi N, Nohmi T, Ogawa K, Nishikawa A, Umemura T. A medium-term *gpt delta* rat model as an *in vivo* system for analysis of renal carcinogenesis and the underlying mode of action. *Exp Toxicol Pathol.* 2015; 67 (1): 31-39.
 3. Ishii Y, Matsushita K, Kuroda K, Yokoo Y, Kijima A, Takasu S, Kodama Y, Nishikawa A, Umemura T. Acrylamide induces specific DNA adduct formation and gene mutations in a carcinogenic target site, the mouse lung. *Mutagenesis.* 2015; 30 (2): 227-235.
 4. Matsushita K, Kuroda K, Ishii Y, Takasu S, Kijima A, Kawaguchi H, Miyoshi N, Nohmi T, Ogawa K, Nishikawa A, Umemura T. Improvement and validation of a medium-term *gpt delta* rat model for predicting chemical carcinogenicity and underlying mode of action. *Exp Toxicol Pathol.* 2014; 66 (7): 313-321.
 5. Onami S, Cho YM, Toyoda T, Horibata K, Ishii Y, Umemura T, Honma M, Nohmi T, Nishikawa A, Ogawa K. Absence of *in vivo* genotoxicity of 3-monochloropropane-1,2-diol and associated fatty acid esters in a 4-week comprehensive toxicity study using F344 *gpt delta* rats. *Mutagenesis.* 2014; 29 (4): 295-302.
 6. Tasaki M, Kuroiwa Y, Inoue T, Hibi D, Matsushita K, Kijima A, Maruyama S, Nishikawa A, Umemura T. Lack of *nrf2* results in progression of proliferative lesions to neoplasms induced by long-term exposure to non-genotoxic hepatocarcinogens involving oxidative stress. *Exp Toxicol Pathol.* 2014; 66 (1): 19-26.
 7. Hibi D, Kijima A, Kuroda K, Suzuki Y, Ishii Y, Jin M, Nakajima M, Sugita-Konishi Y, Yanai T, Nohmi T, Nishikawa A, Umemura T. Molecular mechanisms underlying ochratoxin A-induced genotoxicity: global gene expression analysis suggests induction of DNA double-strand breaks

- and cell cycle progression. *J Toxicol Sci.* 2013; 38 (1): 57-69.
8. Hibi D, Kijima A, Suzuki Y, Ishii Y, Jin M, Sugita-Konishi Y, Yanai T, Nishikawa A, Umemura T. Effects of *p53* knockout on ochratoxin A-induced genotoxicity in *p53*-deficient *gpt* delta mice. *Toxicology.* 2013; 304: 92-99.
 9. Jin M, Kijima A, Hibi D, Ishii Y, Takasu S, Matsushita K, Kuroda K, Nohmi T, Nishikawa A, Umemura T. *In vivo* genotoxicity of methyleugenol in *gpt* delta transgenic rats following medium-term exposure. *Toxicol Sci.* 2013; 131 (2): 387-394.
 10. Tasaki M, Kuroiwa Y, Inoue T, Hibi D, Matsushita K, Ishii Y, Maruyama S, Nohmi T, Nishikawa A, Umemura T. Oxidative DNA damage and *in vivo* mutagenicity caused by reactive oxygen species generated in the livers of *p53*-proficient or -deficient *gpt* delta mice treated with non-genotoxic hepatocarcinogens. *J Appl Toxicol.* 2013; 33 (12): 1433-1441.
 11. Kohei Matsushita, Aki Kijima, Yuji Ishii, Shinji Takasu, Meilan Jin, Ken Kuroda, Hiroaki Kawaguchi, Noriaki Miyoshi, Takehiko Nohmi, Kumiko Ogawa, Takashi Umemura: Development of a medium-term animal model using *gpt* delta rats to evaluate chemical carcinogenicity and genotoxicity. *J. Toxicol. Pathol.* 2013; 26: 19-27.
 12. Suzuki Y, Umemura T, Ishii Y, Hibi D, Inoue T, Jin M, Sakai H, Kodama Y, Nohmi T, Yanai T, Nishikawa A, Ogawa K. Possible involvement of sulfotransferase 1A1 in estragole-induced DNA modification and carcinogenesis in the livers of female mice. *Mutat Res.* 2012; 749 (1-2): 23-28.
 13. Jin M, Kijima A, Suzuki Y, Hibi D, Ishii Y, Nohmi T, Nishikawa A, Ogawa K, Umemura T. *In vivo* genotoxicity of 1-methylnaphthalene from comprehensive toxicity studies with B6C3F₁ *gpt* delta mice. *J Toxicol Sci.* 2012; 37(4): 711-721. Erratum in: *J Toxicol Sci.* 2014; 39 (4): 685.
 14. Suzuki Y, Umemura T, Hibi D, Inoue T, Jin M, Ishii Y, Sakai H, Nohmi T, Yanai T, Nishikawa A, Ogawa K. Possible involvement of genotoxic mechanisms in estragole-induced hepatocarcinogenesis in rats. *Arch Toxicol.* 2012; 86 (10): 1593-1601.
 15. Ishii Y, Inoue K, Takasu S, Jin M, Matsushita K, Kuroda K, Fukuhara K, Nishikawa A, Umemura T. Determination of lucidin-specific DNA adducts by liquid chromatography with tandem mass spectrometry in the livers and kidneys of rats given lucidin-3-O-primeveroside. *Chem Res Toxicol.* 2012; 25 (5): 1112-1118.
- H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

発表者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
	該当無し						

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
Akagi J, Toyoda T, Cho YM, Mizuta Y, Nohmi T, Nishikawa A, Ogawa K.	Validation study of the combined repeated-dose toxicity and genotoxicity assay using <i>gpt</i> delta rats.	Cancer Sci.	106 (5)	529-541	2015
Matsushita K, Ishii Y, Takasu S, Kuroda K, Kijima A, Tsuchiya T, Kawaguchi H, Miyoshi N, Nohmi T, Ogawa K, Nishikawa A, Umemura T.	A medium-term <i>gpt</i> delta rat model as an in vivo system for analysis of renal carcinogenesis and the underlying mode of action	Exp Toxicol Pathol.	67 (1)	31-39	2015
Ishii Y, Matsushita K, Kuroda K, Yokoo Y, Kijima A, Takasu S, Kodama Y, Nishikawa A, Umemura T.	Acrylamide induces specific DNA adduct formation and gene mutations in a carcinogenic target site, the mouse lung.	Mutagenesis	30 (2)	227-235	2015
Matsushita K, Kuroda K, Ishii Y, Takasu S, Kijima A, Kawaguchi H, Miyoshi N, Nohmi T, Ogawa K, Nishikawa A, Umemura T.	Improvement and validation of a medium-term <i>gpt</i> delta rat model for predicting chemical carcinogenicity and underlying mode of action.	Exp Toxicol Pathol.	66 (7)	313-321	2014

Onami S, Cho YM, Toyoda T, Horibata K, Ishii Y, Umemura T, Honma M, Nohmi T, Nishikawa A, Ogawa K.	Absence of <i>in vivo</i> genotoxicity of 3-monochloropropane-1,2-diol and associated fatty acid esters in a 4-week comprehensive toxicity study using F344 gpt delta rats.	Mutagenesis	29 (4)	295-302	2014
Tasaki M, Kuroiwa Y, Inoue T, Hibi D, Matsushita K, Kijima A, Maruyama S, Nishikawa A, Umemura T.	Lack of <i>nrf2</i> results in progression of proliferative lesions to neoplasms induced by long-term exposure to non-genotoxic hepatocarcinogens involving oxidative stress	Exp Toxicol Pathol	66 (1)	19-26	2014
Hibi D, Kijima A, Kuroda K, Suzuki Y, Ishii Y, Jin M, Nakajima M, Sugita-Konishi Y, Yanai T, Nohmi T, Nishikawa A, Umemura T.	Molecular mechanisms underlying ochratoxin A-induced genotoxicity: global gene expression analysis suggests induction of DNA double-strand breaks and cell cycle progression	J Toxicol Sci	38 (1)	57-69	2013
Hibi D, Kijima A, Suzuki Y, Ishii Y, Jin M, Sugita-Konishi Y, Yanai T, Nishikawa A, Umemura T.	Effects of <i>p53</i> knockout on ochratoxin A-induced genotoxicity in <i>p53</i> -deficient <i>gpt</i> delta mice	Toxicology	304	92-99	2013

Jin M, Kijima A, Hibi D, Ishii Y, Takasu S, Matsushita K, Kuroda K, Nohmi T, Nishikawa A, Umemura T.	<i>In vivo</i> genotoxicity of methyleugenol in <i>gpt</i> delta transgenic rats following medium-term exposure.	Toxicol Sci.	131 (2)	387-394	2013
Tasaki M, Kuroiwa Y, Inoue T, Hibi D, Matsushita K, Ishii Y, Maruyama S, Nohmi T, Nishikawa A, Umemura T.	Oxidative DNA damage and <i>in vivo</i> mutagenicity caused by reactive oxygen species generated in the livers of <i>p53</i> -proficient or -deficient <i>gpt</i> delta mice treated with non-genotoxic hepatocarcinogens.	J Appl Toxicol.	33 (12):	1433-1441	2013
Kohei Matsushita, Aki Kijima, Yuji Ishii, Shinji Takasu, Meilan Jin, Ken Kuroda, Hiroaki Kawaguchi, Noriaki Miyoshi, Takehiko Nohmi, <u>Kumiko Ogawa</u> , <u>Takashi Umemura</u> :	Development of a medium-term animal model using <i>gpt</i> delta rats to evaluate chemical carcinogenicity and genotoxicity.	<i>J. Toxicol. Pathol.</i>	26	19-27.	2013
Suzuki Y, Umemura T, Ishii Y, Hibi D, Inoue T, Jin M, Sakai H, Kodama Y, Nohmi T, Yanai T, Nishikawa A, Ogawa K.	Possible involvement of sulfotransferase 1A1 in estragole-induced DNA modification and carcinogenesis in the livers of female mice	Mutat Res.	749 (1-2)	23-28.	2012

Jin M, Kijima A, Suzuki Y, Hibi D, Ishii Y, Nohmi T, Nishikawa A, Ogawa K, Umemura T.	<i>In vivo</i> genotoxicity of 1-methylnaphthalene from comprehensive toxicity studies with B6C3F ₁ <i>gpt</i> delta mice.	J Toxicol Sci. Erratum in: J Toxicol Sci. 2014; 39 (4): 685.	37(4)	711-721	2012
Suzuki Y, Umemura T, Hibi D, Inoue T, Jin M, Ishii Y, Sakai H, Nohmi T, Yanai T, Nishikawa A, Ogawa K.	Possible involvement of genotoxic mechanisms in estragole-induced hepatocarcinogenesis in rats.	Arch Toxicol.	86 (10)	1593-1601	2012
Ishii Y, Inoue K, Takasu S, Jin M, Matsushita K, Kuroda K, Fukuhara K, Nishikawa A, Umemura T.	Determination of lucidin-specific DNA adducts by liquid chromatography with tandem mass spectrometry in the livers and kidneys of rats given lucidin-3- <i>O</i> -primeveroside.	Chem Res Toxicol.	25 (5)	1112-1118	2012

