

Table 7 欠失変異体頻度の解析 (Spi<sup>-</sup> assay)

Groups	Animal No.	Plaques within XL-1 Blue MRA	Plaques within XL-1 Blue MRA (P2)	Mutant frequency ( $\times 10^{-6}$ )	Mean $\pm$ SD
0 ppm 1,4-dioxane	111	1455000	4	2.7	4.4 $\pm$ 3.4
	112	912000	7	7.7	
	113	1680000	4	2.4	
	121	1239000	1	0.8	
	122	724000	6	8.3	
0.2 ppm 1,4-dioxane	211	1004000	5	5.0	4.6 $\pm$ 1.9
	212	998000	6	6.0	
	213	1099000	5	4.5	
	221	1379000	2	1.5	
	222	819000	5	6.1	
2.0 ppm 1,4-dioxane	311	600000	2	3.3	4.9 $\pm$ 2.1
	312	1464000	4	2.7	
	313	835000	5	6.0	
	321	626000	5	8.0	
	322	640000	3	4.7	
20 ppm 1,4-dioxane	411	778000	5	6.4	4.4 $\pm$ 1.7
	412	1296000	5	3.9	
	413	501000	3	6.0	
	421	1412000	4	2.8	
	422	1599000	5	3.1	

Table 8 マイクロアレイによる遺伝子発現量解析(log 比 2 以上の差を有するもの)

Gene Symbol	Gene Title	Log fold change
Sult2a2	sulfotransferase family 2A, dehydroepiandrosterone (DHEA)-preferring, member 2	6.00
Gsta5	glutathione S-transferase Yc2 subunit	4.33
Cyp1a1	cytochrome P450, family 1, subfamily a, polypeptide 1	4.44
Gpx2	glutathione peroxidase 2	3.75
Abcg5	ATP-binding cassette, sub-family G (WHITE), member 5	4.50
Abcg8	ATP-binding cassette, sub-family G (WHITE), member 8	4.41
Pcp4	Purkinje cell protein 4	4.27
Sult2a1	sulfotransferase family 2A, dehydroepiandrosterone (DHEA)-preferring-like 1	3.58
Ggt1	gamma-glutamyltransferase 1	2.66
Aldh1a1	aldehyde dehydrogenase 1 family, member A1	2.73
Gpr64	G protein-coupled receptor 64	2.67
Pter	phosphotriesterase related	2.61
Abcb1a	ATP-binding cassette, sub-family B (MDR/TAP), member 1A	2.76
Prlr	prolactin receptor	2.70
Lamc2	laminin, gamma 2	2.18
UST4r	integral membrane transport protein UST4r	2.58
Abcb1a	ATP-binding cassette, sub-family B (MDR/TAP), member 1A	2.65
Ablim3	actin-binding LIM protein 3	2.04
Psat1	phosphoserine aminotransferase 1	2.47
Slc6a6	solute carrier family 6 (neurotransmitter transporter, taurine), member 6	-2.27
Fasn	fatty acid synthase	-2.30
Sds	serine dehydratase	-3.12
Acpp	acid phosphatase, prostate	-3.98
Odz2	Odz, odd Oz/ten-m homolog 2 (Drosophila)	-2.09
LOC367746	similar to Spindlin-like protein 2 (SPIN-2)	-3.35
Scd1	stearoyl-Coenzyme A desaturase 1	-2.53
Apoa4	apolipoprotein A-IV	-3.50

Table 9 DNA メチル化解析候補遺伝子

ID	Genes in dataset	Prediction (based on expression direction)	Log Ratio
1373817_at	ING4	Affected	-0.166
1368289_at	GC	Affected	-0.212
1388764_at	IQGAP1	Decreased	-0.278
1369492_at	AADAC	Affected	-0.318
1384265_at	POLD3	Affected	-0.318
1367758_at	AFP	Affected	-0.326
1369976_at	DYNLL1	Affected	-0.395
1387202_at	ICAM1	Affected	-0.437
1387242_at	EIF2AK2	Affected	-0.445
1371258_at	FGA	Affected	-0.491
1375250_at	B4GALT1	Affected	-0.508
1388185_at	RB1	Affected	-0.553
1387672_at	GNMT	Increased	-0.702
1377353_a_at	TNFSF13	Affected	-0.720
1370642_s_at	PDGFRB	Affected	-0.732
1378074_at	PDK4	Affected	-0.952
1383291_at	TUBB4B	Affected	-1.058
1387994_at	HSD17B6	Affected	-1.541
1370355_at	SCD	Affected	-2.527

## *gpt delta* ラットを用いた *in vivo* 変異原性試験に関する研究

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

本研究の目的は、食品中の化学物質、特に食品添加物等の遺伝毒性と発がん性を短期的、かつ包括的に検出できる新しい発がんリスク評価法の開発の一環として、*in vivo* 変異原性が検索可能な *gpt delta* ラットを用いた変異原性試験法の有用性を検討することだけでなく、甲状腺に対して変異原性を有さないことが明らかとなった。さらに、同様の手法で、種々の膀胱を標的とした化学物質の変異原性を評価した結果、陽性対照物質である N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine の変異原性が確認された。さらに、陰性対照物質である Sodium ascorbate と同様に、Propolis では変異頻度の有意な変化が認められなかったことから、Propolis は変異原性を有さないことを初めて明らかにした。これまで困難であった甲状腺及び膀胱粘膜のような微小組織を標的とする化学物質の変異原性を評価することに成功し、*gpt delta* ラット短期発がんリスク評価試験法の汎用性を高めることができた。さらに、1,4-ジオキサンは *in vitro* において変異原性陰性であるが、*in vivo* においては変異原性陽性であることが初めて明らかにした。

### A. 研究目的

環境中には多くの発がん物質が存在し、ヒト発がんの原因とされており、食品を介しての化学物質曝露がそのなかでも大きな要因となっている。しかし、食品中化学物質の発がん性評価を含めた安全性評価の検討は未だ不十分である。これは、現在の発がん性評価法は動物試験だけでも2年間という長期的検討が必要であり、莫大な経費および多数の動物数を要することから、多くの食品添加物等に対応することが困難なためである。一方、遺伝

毒性に関しては、*in vitro* の変異原性試験により遺伝毒性の有無が決められてきたが、偽陽性になるものも多く、特異性が低いという点において現状の試験法では問題がある。本研究では、食品中の化学物質、特に食品添加物等の遺伝毒性と発がん性を短期的、かつ包括的に検出可能な新しい発がんリスク評価法の開発の一環として、*in vivo* 変異原性が臓器特異的に検索可能な *gpt delta* ラットを用いた多臓器発がん性試験法の変異原性評価における有用性を検討した。甲状腺発

がん促進物質であり、*in vivo*における遺伝毒性の有無が明らかでないコウジ酸の甲状腺における変異原性を明らかにするために、以前に行った *gpt delta* ラット 18 週間発がん性試験で得られた甲状腺サンプルを用いた。甲状腺からの DNA 抽出については新たに開発した抽出法を用いて（鰐淵分担報告書参照）、大腸菌 *gpt* 遺伝子を指標として点突然変異を検出する *gpt* アッセイ、 $\lambda$ ファージ red/gam 遺伝子を指標とし欠失変異を検出する Spi<sup>-</sup>アッセイをそれぞれ行った。

さらに改良抽出法がその他の微量組織でも有用であることを示すために、プロポリス投与ラット膀胱粘膜を用いて解析を実施した。プロポリスはミツバチの巣の無菌状態を保つ物質であり、抗ウイルス作用、抗腫瘍作用などさまざまな生理活性を有すると報告され、健康食品や化粧品の原料として使用されている。これまでの我々の研究で、プロポリスがラット膀胱発がん促進作用を有することが明らかとなっているが、その膀胱粘膜における *in vivo* 変異原性の有無については報告されていない。またこれまで膀胱粘膜のような微量な組織では *gpt* アッセイを実施するための十分な収量の genomic DNA を確保できなかったため、解析が非常に困難であった。今回は微量試料のための改良抽出法を用いてプロポリスの *in vivo* 変異原性について解析し、その有用性について検討した。

さらに、医薬品・化粧品（シャンプー）などの抽出・精製・反応用溶剤として用

いられる合成有機化合物であり、浄水処理においては除去されない 1,4-ジオキサンの *in vivo* 変異原性及び発がん性について *gpt delta* ラットを用いて検討を行った。

## B. 研究方法

### 1. *gpt delta* ラット甲状腺におけるコウジ酸の *in vivo* 変異原性の検討

6 週齢の雄性 F344 系 *gpt delta* ラットに実験開始より第 5 週まで基礎飼料を与え、第 5 週よりコウジ酸をそれぞれ 0、2.0% 混餌投与し、第 18 週まで飼育後解剖屠殺した。甲状腺における変異体頻度について点突然変異を検出する *gpt* アッセイ法を用いて検討し、併せて *gpt* 遺伝子の変異スペクトラ解析を行った。その際、甲状腺試料からの DNA 抽出には今回新たに開発した微量試料向けの抽出法を用いて試験に供した（鰐淵分担報告書参照）。

### 2. *gpt delta* ラット膀胱粘膜におけるプロポリスの *in vivo* 変異原性の検討

6 週齢の雄性 F344 系 *gpt delta* ラットに基礎飼料、2.5%プロポリス混餌投与群、0.05% BBN 飲水投与群および 5.0% Sodium ascorbate 混餌投与群を設け、それぞれ実験開始から 13 週間投与し、実験開始後 13 週で膀胱粘膜における点突然変異を検出する *gpt* および欠失変異を検出する Spi<sup>-</sup>アッセイを行った。併せて *gpt* 遺伝子の変異スペクトラについて DNA シ

ークエンス解析を行った。その際、膀胱粘膜からの genomic DNA の抽出には新たに開発した抽出法を用いて genomic DNA を抽出し、2 サンプル分を1つにバッチ処理し、試験に供した（鰐淵分担報告書参照）。

### 3. *gpt delta* ラット肝臓における 1,4-ジオキサンの *in vivo* 変異原性の検討

6 週齢の雄性 F344 系 *gpt delta* ラットに 1,4-ジオキサンをそれぞれ 0, 200, 1000, 5000 ppm の濃度（蒸留水にて調整）で 16 週間飲水投与を行った。投与終了後、点突然変異頻度を評価する *gpt* アッセイおよび *gpt* 遺伝子のシーケンス解析を行い、肝臓における変異頻度および変異スペクトラを検討した。なお、0 および 5000 ppm 投与群での *gpt* アッセイによる *in vivo* 変異原性の解析を 2 回実施した。肝臓における GST-P 陽性細胞巢の発生について定量的解析を行った。

### 4. *gpt* および Spi<sup>-</sup>アッセイ

*in vitro* 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λEG10 をファージ粒子として回収した。

*gpt* アッセイでは、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°C 20min（静置）の後、37°C 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-Thioguanine(6-TG)と chloramphenicol (Cm)を含む M9 寒天培地にまいて 37°C で 2 日間培養を行い、*gpt* 遺伝子の不活化による変異体コロニーを得た。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より求めた。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求めた。突然変異体頻度の算出については、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することで得た。

Spi<sup>-</sup>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。XL-1 Blue MRA P2(P2 溶原菌)に回収したファージを加え、37°C 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、λトリプティケース寒天培地にまいて 37°C で一晩培養し、Spi<sup>-</sup>変異体プラークを得た。また、XL-1 Blue MRA(非溶原菌)に感染させ、全ファージが溶菌してプラークを形成す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。

*gpt* 遺伝子変異体の変異スペクトラを評価するため、得られた変異コロニーをコロニーダイレクト PCR 法によって、DNA フラグメントを増幅した。プライマーは Forward に primer 1; 5' -TACCACTTTATCCCGCGTCAGG-3' を、Reverse に primer 2 ; 5' -

-ACAGGGTTTCGCTCAGGTTTGC-3' を使用して、サーマルサイクラーにて *gpt* 遺伝子の ORF 456bp を含む 739bp の DNA フラグメントを増幅した。得られた PCR product を illustra MicroSpin™ S-300 HR Columns にて精製し、BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit を使用して、DNA サイクルシーケンスを行った。プライマーは Forward に primer A; 5' -GAGGCAGTGCCTAAAAGAC -3' を、Reverse に primer B ; 5' -CTATTGTAACCCGCCTGAAG-3' を使用して DNA サイクルシーケンスを行った。その後、ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer で *gpt* 遺伝子の DNA シーケンス解析を行い、変異スペクトラについて解析を行った。

#### 4. 統計学的解析

統計学的解析は Statlight program (Yukms Co., Ltd., Tokyo, Japan) を用いた。2群検定において、F検定を用いて等分散性を評価した。等分散性であった場合は Student's T 検定を、不等分散の場合は Welch's T 検定を用いて評価を行った。多群の検定においては、各群の分散比を Bartlett 検定で検定し、等分散の場合は Dunnett 検定 (両側検定) により、不等分散の場合は Steel 検定により比較した。全ての平均値は Mean ± SD として表し、P < 0.05 以下のものを統計学的に有意であるとみなした。

#### 5. 倫理面への配慮

大阪市立大学の動物飼育施設における

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エーテル麻酔下にて腹部大動脈より放血し、安楽殺を実施した。

### C. 研究結果

#### 1. *gpt delta* ラット甲状腺におけるコウジ酸の *in vivo* 変異原性の検討

*gpt* アッセイの結果を Table 1 に示した。*gpt* 遺伝子の突然変異頻度が無処置群では  $0.65 \pm 0.16 (\times 10^{-5})$ 、2.0%コウジ酸単独投与群では  $0.61 \pm 0.27 (\times 10^{-5})$  であった。*gpt* 遺伝子の突然変異頻度は、無処置群と比較し、2.0%コウジ酸投与群において有意な変化を認めなかった。

また、*gpt* 遺伝子の変異スペクトラを Table 2 に示した。Base substitution において、Transition 変化である G:C to A:T 変化は無処置群では 31.3%、2.0%コウジ酸単独投与群では 25.0%、A:T to G:C 変化は無処置群では 6.3%、2.0%コウジ酸投与群では 12.5%であった。また、同じ base substitution において transversion 変化である G:C to T:A 変化は無処置群では 31.3%、2.0%コウジ酸投与群では 37.5%、G:C to C:G 変化は無処置群では 6.3%、2.0%コウジ酸投与群では 6.3%、A:T to T:A 変化は無処置群では 12.5%、2.0%コウジ酸投与群では 6.3%、A:T to C:G 変化は両群共に認められなかった。deletion において、1bp 欠失変化は無処置群では 6.3%、2.0%コウジ酸投与群では 6.3%、2bp 以上の欠失変化は両群共に認められなかった。挿入変異については両群共に 6.3%であ

った。これら変異スペクトラは無処置群と比較し、2.0%コウジ酸投与群において特異的な有意な変化を認めなかった。

Spi<sup>+</sup>アッセイの結果をTable 3に示した。red/gam 遺伝子の突然変異体頻度が無処置群では  $0.65 \pm 0.16 (\times 10^{-5})$ 、2.0%コウジ酸投与群では  $0.61 \pm 0.27 (\times 10^{-5})$  であった。無処置群および2.0%コウジ酸投与群において有意な変化を認めなかった。

## 2. *gpt delta* ラット膀胱粘膜におけるプロポリスの *in vivo* 変異原性の検討

*gpt* アッセイの結果をTable 4に示した。*gpt* 遺伝子の突然変異頻度が無処置群では  $0.53 \pm 0.11 (\times 10^{-5})$ 、0.05% BBN 投与群では  $4.01 \pm 0.72 (\times 10^{-5})$ 、5.0% Sodium ascorbate 投与群では  $0.63 \pm 0.45 (\times 10^{-5})$ 、2.5%プロポリス投与群では  $0.58 \pm 0.24 (\times 10^{-5})$  であった。*gpt* 遺伝子の膀胱粘膜における突然変異頻度は、無処置群と比較して、0.05% BBN 投与群で有意に増加したが、Sodium ascorbate およびプロポリス投与群では有意な差は認められなかった。

Spi<sup>+</sup>アッセイの結果をTable 5に示した。red/gam 遺伝子の突然変異体頻度が無処置群で  $0.49 \pm 0.19 (\times 10^{-5})$ 、0.05% BBN 投与群では  $4.23 \pm 0.54 (\times 10^{-5})$ 、5.0% Sodium ascorbate 投与群では  $0.51 \pm 0.24 (\times 10^{-5})$ 、2.5%プロポリス投与群では  $0.41 \pm 0.10 (\times 10^{-5})$  であった。無処置群と比較して、0.05% BBN 投与群で有意に増加したが、Sodium ascorbate およびプロポリ

ス投与群では有意な差は認められなかった。

## 3. *gpt delta* ラット肝臓における1,4-ジオキサンの *in vivo* 変異原性および発がん性の検討

剖検時における最終体重、肝臓重量、飼育期間中の1,4-ジオキサン摂取量およびGST-P 陽性細胞巢の定量的評価についてTable 6に示した。無処置群と比較して、5000 ppm 投与群で最終体重、肝臓の相対重量の有意な減少が認められた。また、肝臓の前癌病変マーカーであるGST-P 陽性細胞巢(2細胞以上)の単位肝臓面積あたりの数が5000 ppm 投与群で有意に増加した。点突然変異頻度を評価する *gpt* アッセイの結果をTable 7に示す。*gpt* 遺伝子の突然変異頻度が無処置群では  $4.3 \pm 2.6 (\times 10^{-6})$ 、200 ppm 1,4 ジオキサン投与群では  $6.5 \pm 3.1 (\times 10^{-6})$ 、1000 ppm 投与群では  $7.9 \pm 2.9 (\times 10^{-6})$ 、5000 ppm 投与群では  $13.2 \pm 7.1 (\times 10^{-6})$  であった。*gpt* 遺伝子の突然変異頻度は、無処置群と比較して、5000 ppm 投与群において有意な増加がみられた。

また、*gpt* 遺伝子の変異スペクトラをTable 8に示す。A:T to T:A Transversion の頻度が200ppmで増加傾向、1000および5000 ppm 群で有意な増加、A:T to G:C Transition の頻度が5000 ppm 群で有意な増加が認められた。それぞれの遺伝子変異スペクトラにおける変異頻度について以下に記す。Base substitution において、Transition 変化である G:C to A:T



変化は無処置群では  $2.5 \pm 1.7 (\times 10^{-6})$ 、200 ppm 投与群では  $2.8 \pm 1.7 (\times 10^{-6})$ 、1000 ppm 投与群では  $1.9 \pm 1.4 (\times 10^{-6})$ 、5000 ppm 投与群では  $3.2 \pm 2.3 (\times 10^{-6})$ 、A:T to G:C 変化は無処置群では  $0.3 \pm 0.6 (\times 10^{-6})$ 、200 ppm 投与群では  $0.2 \pm 0.4 (\times 10^{-6})$ 、1000 ppm 投与群では  $1.1 \pm 1.2 (\times 10^{-6})$ 、5000 ppm 投与群では  $4.0 \pm 3.1 (\times 10^{-6})$  であった。また、同じ Base substitution において Transversion 変化である G:C to T:A 変化は無処置群で  $0.9 \pm 1.5 (\times 10^{-6})$ 、200 ppm 投与群では  $1.1 \pm 0.8 (\times 10^{-6})$ 、1000 ppm 投与群では  $0.8 \pm 1.1 (\times 10^{-6})$ 、5000 ppm 投与群では  $2.0 \pm 1.8 (10^{-6})$ 、G:C to C:G 変化は無処置群では 0、200 ppm 投与群では  $0.3 \pm 0.8 (\times 10^{-6})$ 、1000 ppm 投与群では  $0.5 \pm 0.9 (\times 10^{-6})$ 、5000 ppm 投与群では  $0.4 \pm 0.8 (\times 10^{-6})$ 、A:T to T:A 変化は無処置群では 0、200 ppm 投与群では  $1.0 \pm 2.2 (\times 10^{-6})$ 、1000 ppm 投与群では  $1.5 \pm 1.0 (\times 10^{-6})$ 、5000 ppm 投与群では  $1.7 \pm 1.8 (\times 10^{-6})$ 、A:T to C:G 変化は無処置群では 0、200 ppm 投与群では 0、1000 ppm 投与群では  $0.4 \pm 1.0 (\times 10^{-6})$ 、5000 ppm 投与群では  $0.8 \pm 1.1 (\times 10^{-6})$  であった。deletion において、1bp 欠失変化は無処置群では  $0.2 \pm 0.5 (\times 10^{-6})$ 、200 ppm 投与群では  $0.2 \pm 0.5 (\times 10^{-6})$ 、1000 ppm 投与群では  $0.7 \pm 1.1 (\times 10^{-6})$ 、5000 ppm 投与群では  $1.0 \pm 1.4 (\times 10^{-6})$ 、2bp 以上の欠失変化は無処置群では  $0.3 \pm 0.9 (\times 10^{-6})$ 、200 ppm 投与群では  $0.2 \pm 0.4 (\times 10^{-6})$ 、1000 ppm 投

与群では  $0.7 \pm 0.9 (\times 10^{-6})$ 、5000 ppm 投与群では  $0.2 \pm 0.6 (\times 10^{-6})$  であった。Insertion 変化において 1bp 挿入変異は無処置群では  $0.2 \pm 0.4 (\times 10^{-6})$ 、200 ppm 投与群では  $0.7 \pm 0.9 (\times 10^{-6})$ 、1000 ppm 投与群では  $0.3 \pm 0.8 (\times 10^{-6})$ 、5000 ppm 投与群では 0、2bp 以上の挿入変異は無処置群では 0、200 ppm 投与群では  $0.2 \pm 0.6 (\times 10^{-6})$ 、1000 ppm 投与群では 0、5000 ppm 投与群では 0 であった。

1,4-ジオキサンの遺伝毒性について再確認することを目的で 0 および 5000 ppm 投与群間の *gpt* アッセイによる *in vivo* 変異原性の解析を再実施した結果、上述の解析と同様に変異体頻度の有意な増加および変異スペクトラパターンが認められ、1,4-ジオキサンの変異原性を再確認することができた (Table. 9-10)。

#### D. 考察

本研究では、これまで一般的に解析に用いることが困難であった微小组織における被検物質の *in vivo* 変異原性を、新たに開発した抽出法を用いて評価を行った。コウジ酸投与における甲状腺およびプロポリス投与における膀胱粘膜の *gpt* アッセイおよび *Spi*<sup>-</sup>アッセイの結果、いずれも陰性であった。以上の結果から、コウジ酸およびプロポリスは *in vivo* 変異原性をそれぞれ甲状腺、膀胱粘膜に示さないことが明らかとなった。コウジ酸は復帰突然変異試験、染色体異常試験で陽性を示しているものの、*in vivo* 変異原性試験であるマウス小核試験において陰

性を示している。本研究は今まで明らかでなかった甲状腺における遺伝毒性をコウジ酸が有していないことを初めて明らかにした。また、*gpt* 遺伝子の変異スペクトラ解析の結果、無処置群と比較してコウジ酸が甲状腺において有意な遺伝子変化を示さないことが明らかとなった。

プロポリスの遺伝毒性については復帰突然変異試験および染色体異常試験で陽性であることが報告されているものの、マウス小核試験では陰性であることが報告されている。今回の結果はプロポリスが膀胱粘膜において変異原性を有さないことを初めて明らかとし、その発がん促進メカニズムに非遺伝毒性メカニズムが関与していることが示唆された。

遺伝毒性発がん物質である BBN に関して、*gpt* アッセイにおける点突然変異の指標である *gpt* 遺伝子の突然変異体頻度は、無処置群と比較して、BBN 投与群において有意な増加が認められた。また、Spi アッセイにおける欠失変異の指標である *red/gam* 遺伝子の変異体頻度も無処置群と比較して、BBN 投与群において有意な増加が認められた。これらのことより、BBN は点突然変異および欠失変異の両方の変異を誘発することが明らかとなり、変異原性を有することが確認された。一方、膀胱発がん促進物質である Sodium ascorbate は両アッセイともに有意な増加が認められず、*in vivo* 変異原性を有さないことが明らかとなった。

GST-P 陽性細胞巢の定量的評価および *gpt* アッセイによって、1,4-ジオキサンが

ラット肝臓において変異原性および発がん性を有することが明らかとなった。

## E. 結論

コウジ酸がラット肝臓において、変異原性を有さないことを我々はすでに明らかにしている。本年度はさらに、発がん促進作用が確認されているが遺伝毒性の有無が明らかではない甲状腺において変異原性を有しないことをはじめて明らかにし、その発がん促進機序に遺伝毒性メカニズムを介さないことを示した。さらに、*gpt delta* ラットを用いたプロポリスの膀胱粘膜における変異原性を評価した結果、変異原性を有さないことがはじめて明らかとなった。両試験共に、今回新たに開発した微量試料に対する抽出法（鰐淵分担報告書参照）を用いることで十分に *in vivo* 変異原性の評価が可能であることが確認でき、本抽出法が非常に有用であることが確認できた。

1,4-ジオキサンが *in vivo* 変異原性を有し、さらに肝発がん性も有することが明らかとなった。この成果は 1,4-ジオキサンのリスク評価・管理に寄与するものであると考えられた。また、*gpt delta* ラット短期発がんリスク評価試験法が変異原性・発がん性の包括的短期リスク評価試験法として有用であること確認された。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

1. 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, 2012.
2. 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.
  3. 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, 2012.
  4. 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]quinoxaline. *Mutat Res*, 748, 29-35, 2012.
  5. 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.
  6. 山野莊太郎、魏 民、加藤 実、鰐渕英機. 第2節 膀胱がんモデル動物. *Animal models 疾患モデルの作成と利用：がん*, 560-568, エル・アイ・シー, 2012.
  7. 加藤 実、魏 民、鰐渕英機. 尿路上皮腫瘍の遺伝子異常と予後との関連. *腫瘍病理識別診断アトラス腎盂・尿管・膀胱癌*, 237-244, 文光堂, 2012.
  8. 鰐渕英機、山野莊太郎、魏 民. 第5回肺がんモデル. *細胞工学*, 31, 1384-1389, 学研メディカル秀潤社, 2012.
  9. Fukushima S, Wei M, Kakehashi A, Wanibuchi H. Threshold for genotoxic carcinogens: The central concern in carcinogenic risk assessment. *Gene and Environment*, 34, 153-156, 2012.
  10. Xie XL, Kakehashi A, Wei M, Yamano S, Takeshita M, Yunoki T, Wanibuchi H. l-Leucine and l-isoleucine enhance growth of BBN-induced urothelial tumors in the rat bladder by modulating expression of amino acid

- transporters and tumorigenesis-associated genes. *Food Chem Toxicol*, 59, 137-144, 2013.
11. Hanada S, Nishiyama N, Mizuguchi S, Yamano S, Kakehashi A, Wei M, Inoue H, Komatsu H, Chung K, Suehiro S, Wanibuchi H. Clinicopathological significance of combined analysis of cytokeratin19 expression and preoperative serum CYFRA21-1 levels in human lung squamous cell carcinoma. *Osaka City Med J*, 59, 35-44, 2013.
  12. Komatsu H, Kakehashi A, Nishiyama N, Izumi N, Mizuguchi S, Yamano S, Inoue H, Hanada S, Chung K, Wei M, Suehiro S, Wanibuchi H. Complexin-2 (CPLX2) as a potential prognostic biomarker in human lung high grade neuroendocrine tumors. *Cancer Biomark*, 13, 171-180, 2013.
  13. Wei M, Yamada T, Yamano S, Kato M, Kakehashi A, Fujioka M, Tago Y, Kitano M, Wanibuchi H. Diphenylarsinic acid, a chemical warfare-related neurotoxicant, promotes liver carcinogenesis via activation of aryl hydrocarbon receptor signaling and consequent induction of oxidative DNA damage in rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, 273, 1-9, 2013.
  14. Kakehashi A, Hagiwara A, Imai N, Nagano K, Nishimaki F, Banton M, Wei M, Fukushima S, Wanibuchi H. Mode of action of ethyl tertiary-butyl ether hepatotumorigenicity in the rat: Evidence for a role of oxidative stress via activation of CAR, PXR and PPAR signaling pathways. *Toxicol Appl Pharmacol*, 273, 390-400, 2013.
  15. Tago Y, Yamano S, Wei M, Kakehashi A, Kitano M, Fujioka M, Ishii N, Wanibuchi H. Novel medium-term carcinogenesis model for lung squamous cell carcinoma induced by N-nitroso-tris-chloroethylurea in mice. *Cancer Sci*, 104, 1560-1566, 2013.
  16. Hanada S, Kakehashi A, Nishiyama N, Wei M, Yamano S, Chung K, Komatsu H, Inoue H, Suehiro S, Wanibuchi H. Myristoylated alanine-rich C-kinase substrate as a prognostic biomarker in human primary lung squamous cell carcinoma. *Cancer Biomark*, 13, 289-298, 2013.
  17. Kakehashi A, Wei M, Fukushima S, Wanibuchi H. Oxidative stress in the carcinogenicity of chemical carcinogens. *Cancers*, 5, 1332-1354, 2013.
  18. Kato M, Wei M, Yamano S, Fujioka M, Kakehashi A, Wanibuchi H. Evaluation of the modifying effect

- of inhalation of mainstream cigarette smoke on mouse bladder carcinogenesis. *J Toxicol Pathol*, 26, 447-451, 2013.
19. 藤岡正喜、山野莊太郎、魏 民、鰐渕英機. 免疫組織染色の定量法. *細胞工学*, 学研メディカル秀潤社, 33(3), 316-322, 2014.
  20. Yamada T, Wei M, Toyoda T, Yamano S, Wanibuchi H. Inhibitory effect of raphanobrassica on *Helicobacter pylori*-induced gastritis in Mongolian gerbils. *Food Chem Toxicol*, 70, 107-113, 2014.
  21. Tago Y, Fujii T, Wada J, Kato M, Wei M, Wanibuchi H, Kitano M. Genotoxicity and subacute toxicity studies of a new astaxanthin-containing *Phaffia rhodozyma* extract. *J Toxicol Sci*, 39, 373-382, 2014.
  22. Kakehashi A, Kato A, Ishii N, Wei M, Morimura K, Fukushima S, Wanibuchi H. Valerian inhibits rat hepatocarcinogenesis by activating GABA(A) receptor-mediated signaling. *PLoS One*, 9, e113610, 2014.
  23. Kuwae Y, Kakehashi A, Wakasa K, Wei M, Yamano S, Ishii N, Ohsawa M, Wanibuchi H. Paraneoplastic Mucicopolysaccharide Antigen-Like 1 as a Potential Prognostic Biomarker in Human Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Pancreas*, 44, 106-115, 2015.
  24. Wei M, Xie Xiao-Li, Yamano S, Kakehashi A, Wanibuchi H. Isoleucine, leucine and their role in experimental models of bladder carcinogenesis. *Branched Chain Amino Acids in Clinical Nutrition*, Vol 1, 253-260, 2015.
  25. Gi M, Fujioka M, Yamano S, Shimomura E, Ishii N, Kakehashi A, Takeshita M, Wanibuchi H. Determination of Hepatotoxicity and Its Underlying Metabolic Basis of 1,2-dichloropropane in Male Syrian Hamsters and B6C3F1 Mice. *Toxicol Sci*, 2015 (in press).
2. 学会発表
    1. 梯アンナ、謝 曉利、山野莊太郎、魏 民、鰐渕英機：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)
    2. 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 31<sup>st</sup> Annual Symposium, Boston (2012年6月)
    3. 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)
4. 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)
  5. 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)
  6. 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)
  7. 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)
  8. 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)
  9. 岡部恭子、山野莊太郎、魏 民、加藤 実、田尻正喜、謝 暁利、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)
  10. 梯アンナ、桑江優子、山野莊太郎、魏 民、謝 暁利、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)
  11. 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)
  12. 魏 民、山野莊太郎、加藤 実、梯アンナ、神吉将之、謝 暁利、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)
  13. 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)
  14. 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)

15. 奥村真衣、魏 民、山野莊太郎、藤岡正喜、多胡善幸、北野光昭、鰐渕英機：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)
16. 山野莊太郎、魏 民、藤岡正喜、梯アンナ、岡部恭子、武下正憲、鰐渕英機：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)
17. 梯アンナ、萩原昭裕、今井則夫、魏 民、長野嘉介、福島昭治、鰐渕英機：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)
18. 岡部恭子、山野莊太郎、魏 民、藤岡正喜、謝 暁利、串田昌彦、鰐渕英機：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)
19. 藤岡正喜、魏 民、山野莊太郎、岡部恭子、福永賢輝、謝 暁利、鰐渕英機：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)
20. 魏 民、山野莊太郎、加藤 実、梯アンナ、鰐渕英機：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)
21. 山野莊太郎、岡部恭子、梯アンナ、魏 民、鰐渕英機：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)
22. Yamano S, Wei M, Fujioka M, Kakehashi A, Wanibuchi H: Establishment of a novel mice model for lung squamous cell carcinoma. 9th AACR-JCA Joint Conference, Maui, HI (2013 年 2 月)
23. 鰐渕英機、桑江優子、魏 民、若狭研一、梯アンナ：ヒト肝細胞癌における特異的候補分子の機能解析. 第 102 回日本病理学会総会, 札幌 (2013 年 6 月)
24. 鰐渕英機、魏 民、梯アンナ、山野莊太郎、藤岡正喜：ヒ素発がん性の機序の解明. 第 20 回日本がん予防学会, 東京 (2013 年 7 月)
25. 梯アンナ、萩原昭裕、今井則夫、長野嘉介、西牧富久美、魏 民、福島昭治、鰐渕英機：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 28 回発癌病理研究会, 沖縄県南城市 (2013 年 8 月)
26. Okumura M, Wei M, Yamano S, Fujioka M, Kakehashi A, Wanibuchi H.

- Oncomodulin is a novel early marker of urinary bladder carcinogenesis in F344 rats. The European Cancer Congress 2013, Amsterdam, the Netherlands (2013年9~10月)
27. 魏 民、山野莊太郎、藤岡正喜、加藤 実、武下正憲、梯アンナ、鰐渕英機：1, 2 - ジクロロプロパンのマウスおよびハムスターの肝臓における代謝および毒性発現機序の検討. 第72回日本癌学会学術総会, 横浜 (2013年10月)
  28. 藤岡正喜、魏 民、山野莊太郎、奥村真衣、下村衣里、梯アンナ、鰐渕英機：*gpt delta* ラットを用いたDMA(V), iAs(III)の変異原性および遺伝子変化の検討. 第72回日本癌学会学術総会, 横浜 (2013年10月)
  29. 梯アンナ、桑江優子、加藤 実、山野莊太郎、神吉将之、魏 民、若狭研一、鰐渕英機：ヒト肝細胞癌における新規特異的候補分子ターゲットの機能解析. 第72回日本癌学会学術総会, 横浜 (2013年10月)
  30. 山野莊太郎、魏 民、藤岡正喜、多胡善幸、北野光昭、三島胡桃、鰐渕英機：内因性NADPH オキシダーゼインヒビターであるアポサイニンはラット腎発がんにおいて発がん抑制作用を有する. 第72回日本癌学会学術総会, 横浜 (2013年10月)
  31. 奥村真衣、藤岡正喜、山野莊太郎、梯アンナ、魏 民、鰐渕英機：ラット中期多臓器発がん性試験法を用いたDPAA(diphenyl arsenic acid)の発がん修飾作用の検討. 第72回日本癌学会学術総会, 横浜 (2013年10月)
  32. 鰐渕英機、奥村真衣、藤岡正喜、魏 民：多臓器発がん性試験法を用いたラットにおけるジフェニルアルシンの発がん性の検討. 第19回ヒ素シンポジウム, 福岡 (2013年11月)
  33. Yamano S, Wei M, Wanibuchi H. Cancer initiating cell of lung squamous cell carcinoma in mice might be derived from of the bronchiolar alveolar stem cell. 第18回日韓がんワークショップ, 岐阜 (2013年11月)
  34. 魏 民、山野莊太郎、藤岡正喜、梯アンナ、下村衣里、神吉将之、鰐渕英機：シリアンハムスターにおける1, 2 - dichloropropanの強制経口投与による肝毒性とその発現機序の検討. 第30回日本毒性病理学会総会および学術集会, 徳島 (2014年1月)
  35. 梯アンナ、石井真美、藤岡正喜、魏 民、鰐渕英機：肝発がんにおけるLC-MS/MS 及び *in vitro* 機能解析を用いた新規特異的候補分子の検討. 第30回日本毒性病理学会総会および学術集会徳島 (2014年1月)
  36. 山野莊太郎、尾崎清和、武田周二、串田昌彦、井澤武史、山手丈至、平田暁大、藤岡正喜、魏 民、鰐渕英機：EHEN 投与ラットの前腸由来臓器



- への分化多能性を示す肝芽腫の一例. 第30回日本毒性病理学会総会および学術集会, 徳島 (2014年1月)
37. 藤岡正喜、魏 民、山野荘太郎、下村衣里、三島胡桃、福永賢輝、鰐淵英機：ラット膀胱におけるプロポリスの発がん促進作用及びその機序の検討. 第30回日本毒性病理学会総会および学術集会, 徳島 (2014年1月)
38. 奥村真衣、藤岡正喜、魏 民、山野荘太郎、三島胡桃、多胡善幸、鰐淵英機：ラット中期多臓器発がんモデルを用いたDPAA(diphenyl arsenic acid)の発がん修飾作用の検討. 第30回日本毒性病理学会総会および学術集会, 徳島 (2014年1月)
39. 三島胡桃、山野荘太郎、藤岡正喜、魏 民、北野光昭、鰐淵英機：EHEN誘発ラット腎発がんにおいて内因性NADPH oxidase 阻害剤 apocyninは抑制作用を有する. 第30回日本毒性病理学会総会および学術集会, 徳島 (2014年1月)
40. 下村衣里、藤岡正喜、魏 民、山野荘太郎、梯アンナ、串田昌彦、鰐淵英機：DMA<sup>v</sup>およびiAs<sup>III</sup>ラット膀胱、肝臓における変異原性の解析. 第30回日本毒性病理学会総会および学術集会, 徳島 (2014年1月)
41. 梯アンナ、魏 民、福島昭治、鰐淵英機：ラット肝発がんにおけるValerianの予防効果. 第13回分子予防環境医学研究会, 和歌山 (2014年1~2月)
42. 三島胡桃、山野荘太郎、藤岡正喜、魏 民、鰐淵英機：EHEN誘発ラット腎発がんにおいて内因性NADPH oxidase 阻害剤 apocyninは抑制作用を有する. 第13回分子予防環境医学研究会, 和歌山 (2014年1~2月)
43. Wei M, Yamano S, Fujioka M, Kakehashi A, Wanibuchi H: Diphenylarsinic acid, a chemical warfare-related neurotoxicant, promotes liver carcinogenesis via activation of aryl hydrocarbon receptor signaling and consequent induction of oxidative DNA damage in rats. 平成25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 (2014年2月)
44. 山野荘太郎、三島胡桃、藤岡正喜、魏 民、鰐淵英機：ラット腎発がんにおけるNADPH oxidase(NOX)の役割. 平成25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 (2014年2月)
45. 山野荘太郎、魏 民、藤岡正喜、鰐淵英機：マウス肺扁平上皮癌において気管支肺胞幹細胞がオリジンである可能性. 第103回日本病理学会総会, 広島 (2014年4月)
46. 梯アンナ、桑江優子、石井真美、魏 民、鰐淵英機：ヒト肝細胞癌におけるLC-MS/MS及び*in vitro*機能解析を用いた新規特異的候補分子ターゲットの検討. 第103回日本病理学会総会, 広島 (2014年4月)

47. 三島胡桃、山野莊太郎、藤岡正喜、魏 民、鰐淵英機：EHEN 誘発ラット腎発がんにおいて内因性 NADPH oxidase 阻害剤 apocynin は抑制作用を有する。第 103 回日本病理学会総会，広島（2014 年 4 月）
48. 福島昭治、魏 民、梯アンナ、鰐淵英機：化学発がん物質のリスク評価における閾値問題。第 41 回日本毒理学学会学術年会，神戸（2014 年 7 月）
49. 石井真美、梯アンナ、魏 民、佐谷秀行、鰐淵英機：ヒト肝細胞癌組織における癌幹細胞マーカーとしての CD44v9 の検討。第 11 回日本病理学会カンファレンス，神戸（2014 年 8 月）
50. 下村衣里、魏 民、藤岡正喜、山野莊太郎、梯アンナ、三島胡桃、鰐淵英機：ハムスター BOP 二段階胆膵管発がんモデルを用いた 1,2-dichloropropane の発がん修飾作用の検討。第 29 回発癌病理研究会，いわき（2014 年 9 月）
51. 三島胡桃、山野莊太郎、藤岡正喜、魏 民、下村衣里、鰐淵英機：EHEN 誘発ラット腎発がんにおける発がん機序の解明 PI3K/Akt/mTOR signaling pathway 及び NADPH oxidase の役割。第 29 回発癌病理研究会，いわき（2014 年 9 月）
52. 山野莊太郎、三島胡桃、藤岡正喜、魏 民、鰐淵英機：腎発がんモデルを用いた発がん機構の解明及び転移モデルへの応用。平成 26 年度がん若手研究者ワークショップ，茅野（2014 年 9 月）
53. 魏 民、下村衣里、藤岡正喜、山野莊太郎、梯アンナ、石井真美、武下正憲、房 赫、鰐淵英機：ハムスター化学発がんモデルを用いた 1,2-dichloropropane の発がん修飾作用の検討。第 73 回日本癌学会学術総会，横浜（2014 年 9 月）
54. 石井真美、梯アンナ、桑江優子、大澤政彦、魏 民、鰐淵英機：ヒト NASH 肝細胞癌におけるプロテオーム解析を用いた分枝メカニズムの検討。第 73 回日本癌学会学術総会，横浜（2014 年 9 月）
55. 藤岡正喜、魏 民、山野莊太郎、梯アンナ、石井真美、下村衣里、三島胡桃、房 赫、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 73 回日本癌学会学術総会，横浜（2014 年 9 月）
56. 梯アンナ、石井真美、桑江優子、房 赫、藤岡正喜、魏 民、鰐淵英機：ヒト肝細胞癌における新治療ターゲットの検索：CNPY2 及び CACHD1。第 73 回日本癌学会学術総会，横浜（2014 年 9 月）
57. Yamano S, Wei M, Fujioka M, Wanibuchi H, Cancer initiating cekk of lung squamous cell carcinoma in mice might be cerived from the bronchiolar alveolar stem cell. 39<sup>th</sup> EAMO Congress, Madrid,

- Spain (2014. Sep)
58. 鰐渕英機、魏 民：ヒ素の発がん機序の解明. 第 60 回日本病理学会秋期特別総会, 浦添 (2014 年 11 月)
59. 下村衣里、魏 民、藤岡正喜、山野莊太郎、梯アンナ、鰐渕英機：ハムスターBOP 二段階膵胆管発がんモデルを用いた 1,2-dichloropropane(1,2-DCP)の発がん修飾作用の検討. 第 31 回日本毒性病理学会学術総会及び学術集会, 東京 (2015 年 1 月)
60. Anna Kakehashi, Naomi Ishii, Min Gi, Masaki Fujioka, Hideki Wanibuchi, CNPY2 and CACHD1 as novel molecular markers of hepatocellular carcinoma. 第 31 回日本毒性病理学会学術総会及び学術集会, 東京 (2015 年 1 月)
61. 藤岡正喜、魏 民、山野莊太郎、下村衣里、三島胡桃、鰐渕英機：非遺伝毒性肝発がん物質ダンマル樹脂の発がんメカニズムの検討. 第 31 回日本毒性病理学会学術総会及び学術集会, 東京 (2015 年 1 月)
62. 三島胡桃、山野莊太郎、魏 民、鰐渕英機：ラット同所同種移植による新規腎癌肺転移モデルの確立及び評価. 第 31 回日本毒性病理学会学術総会及び学術集会, 東京 (2015 年 1 月)
63. 山野莊太郎、三島胡桃、山田健二、平山幸良、藤岡正喜、魏 民、鰐渕英機：腎発がんモデルを用いた発がん機構の解明及び転移モデルへの応用. 平成 26 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 (2015 年 2 月)
64. 平山幸良、山野莊太郎、山田健二、藤岡正喜、魏 民、三島胡桃、鰐渕英機：肝微小環境が及ぼす転移性腎癌への影響. 平成 26 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 (2015 年 2 月)
65. 三島胡桃、山野莊太郎、山田健二、藤岡正喜、魏 民、鰐渕英機：腎細胞癌肺転移新規モデルの構築及び評価. 第 14 回分子予防環境医学研究会, 大阪 (2015 年 2 月)
66. 下村衣里、魏 民、藤岡正喜、山野莊太郎、梯アンナ、鰐渕英機：1,2-DCP 投与によるハムスターおよびマウスの肝毒性メカニズムの検討. 第 14 回分子予防環境医学研究会, 大阪 (2015 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

Table.1 *gpt* mutant frequencies in thyroid

Organ	Groups	Animal No.	Cm <sup>R</sup> colonies ( $\times 10^5$ )	6-TG <sup>R</sup> and Cm <sup>R</sup> colonies	Mutant Frequency ( $\times 10^{-5}$ )	Mean $\pm$ SD
Thyroid	Non-treatment	611	3.70	2	0.54	0.75 $\pm$ 0.20
		612	3.41	2	0.59	
		613	4.09	4	0.98	
		621	3.36	2	0.60	
		622	3.17	3	0.95	
		623	3.53	3	0.85	
	2.0% Kojic acid	411	3.85	4	1.04	0.74 $\pm$ 0.25
		412	4.12	2	0.49	
		413	3.85	2	0.52	
		421	3.09	3	0.97	
		422	3.50	3	0.86	
		423	3.58	2	0.56	