

201522049A

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

Polk欠損マウスを用いた高感度なCYP非依存的ベンゾ[a]ピレン誘発遺伝毒性の評価

(H27-食品-若手-021)

平成27年度 総括研究報告書

研究代表者 赤木純一

平成28（2016）年 5月

目 次

I. 総括研究報告	
Polκ欠損マウスを用いた高感度なCYP非依存的ベンゾ[a]ピレン誘発遺伝毒性の評価 赤木純一	----- 1
II. 研究成果の刊行に関する一覧表	----- 13

Polk欠損マウスを用いた高感度なCYP非依存的ベンゾ[a]ピレン誘発遺伝毒性の評価

研究代表者 赤木純一 国立医薬品食品衛生研究所病理部研究員

研究要旨

ベンゾ[a]ピレン（BaP）は生体内で代謝を受けて活性化され、DNA に付加体を形成する遺伝毒性物質である。本研究では損傷乗り越え型 DNA ポリメラーゼである Pol η （イータ）、Pol ι （イオタ）、Pol κ （カッパ）を欠損した細胞の BaP 感受性について検討したところ、Pol κ および Pol ι 欠損細胞では代謝非依存的に BaP 高感受性を示した。また、Pol κ 欠損細胞では低濃度の非代謝 BaP 処理により DNA 二重鎖切断マーカである γ -H2AX、S 期チェックポイントキナーゼ Chk1 のリン酸化といった DNA 損傷応答機構の活性化が見られたことから、BaP が非代謝条件下で閾値なしを前提とする遺伝毒性を誘発することが示唆された。次年度に Pol κ 欠損マウスを用いて *in vivo* 遺伝毒性を検討するため、Pol κ ヘテロ欠損雌雄マウスの繁殖を行い、56 ペアを作出するとともに、余剰動物を用いて用量設定のための予備実験を実施した。

A. 研究目的

ベンゾ[a]ピレン（BaP）は多環芳香族炭化水素の一つであり、排ガス、煙草煙の他、加熱調理した食品にも含まれる汚染物質である(1)。BaP は生体内で代謝を受けて活性化され、DNA に付加体を形成する。こうした損傷塩基を乗り越えて DNA 合成を継続する機構が損傷乗り越え複製（TLS）である(2)。哺乳類細胞は Pol η 、Pol ι 、Pol κ など複数の TLS ポリメラーゼを持っている(3)。研究代表者はこれまでに、Pol η ・Pol ι ・Pol κ 三重欠損細胞（TKO）が様々な変異原に対して野生型細胞（WT）と比較して高い感受性を示すことを見出している。BaP は WT 細胞に対しては従来の知見と一致して S9 mix 非存在下では 50 μ M でも全く細胞毒性がみられず、S9 mix 存在下のみで生存率低下を示した（IC₅₀=13.5 μ M）。一方で TKO 細胞は S9 mix 非存在下で BaP に対して極めて高い感受性を示し（IC₅₀=0.25 μ M）、S9 mix 存在下では WT 細胞とは逆に細胞毒性が低下した（IC₅₀=4.8 μ M）。さらに TKO 細胞のみならず BaP 付加体の乗り越えに関与する Pol κ の単独欠損細胞でも同様の現象がみられた。このことから BaP には *in vitro* で代謝活性化を必要とする既知の毒性に加えて、代謝を必要としない毒性発現機序の存在が示唆された。また、BaP は CYP により代謝活性化を受けるが経口投与による動物実験では肝臓ではがんを誘発せず、前胃、食道、舌といった食物と直接接触する部位ががん標的臓器となっている(4)。さらに、CYP1A1 欠損マウスや HRN マウスを用いた研究

から、*in vivo* では BaP は CYP により解毒されることが示されている(5,6)。TLS 欠損細胞における高感受性はリスク評価上閾値がないとされる遺伝毒性を示唆していることから、肝酵素による代謝を受けていない BaP が極めて低濃度で DNA 損傷を誘発する可能性が示されたことは食品安全上重要な知見であると考えられた。こうした上部消化管における CYP 非依存的な BaP 誘発遺伝毒性を、TLS 欠損細胞および遺伝子改変マウスを用いて高感度に検出することを目的として本研究を実施した。

B. 研究方法

B-1. 細胞

Pol η 、Pol ι 、Pol κ の単独欠損（Pol η ^{-/-}、Pol ι ^{-/-}、Pol κ ^{-/-}）細胞または三重欠損（TKO）細胞、および野生型（WT）細胞は既に樹立された細胞(7-9)を作成者の花岡文雄博士（学習院大学教授）および大森治夫博士（学習院大学客員教授）より分与を受けて使用した。これらの細胞は 37°C、5% CO₂ 環境下で 10%ウシ胎児血清を添加したダルベッコ変法イーグル培地で培養した。

B-2. 細胞生存率アッセイ

細胞を 96 ウェルプレートに撒き、一晩置いて接着させた後、さまざまな濃度の BaP を各 6 ウェルずつ添加した。対象群および培地のみをブランク群各 6 ウェルには溶媒のみを添加した。代謝活性化を行う群には被験物質とともに終濃度 1%の染色体異常試験用 S9 mix（キッコーマン）を添加

した。24時間後被験物質を含む培地を除去し、新鮮な培地で一度ウェルを洗った後に再び培地を添加して96時間培養した。その後MTS試薬(Promega)を添加した培地に交換し、1時間インキュベートし、吸光プレートリーダーを用いて495 nmの吸光度を測定した。

B-3. DNA 損傷応答の解析

細胞を6 cm ディッシュに撒き、一晩置いて接着させた後、被験物質を添加してインキュベートした。その後細胞を氷上で回収し、0.5% Triton X-100を含むバッファーに懸濁して可溶性画分と不溶性画分に分離した。それぞれの画分の蛋白質を定量してSDS-PAGEに展開し、 γ -H2AX、リン酸化Chk1をWestern blotにより検出した。

B-4. Polk 欠損マウス

Polkは損傷DNAの乗り越え複製に関与する因子であるため、内因性の突然変異が蓄積するリスクを避けるためにPolkヘテロ欠損($Polk^{+/-}$)マウスと野生型C57BL/6Jを掛け合わせて系統維持および繁殖を行っている。 $Polk^{+/-}$ マウス雌雄は作成者である大森治夫博士(学習院大学客員教授)より了承を得て、日本クレアで受託飼育されていたSPF動物を搬入した。動物は基礎飼料(CE-2、30 kGy 滅菌済; 日本クレア)および調製水を自由摂取させ、温度 $24\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55\pm 5\%$ 、換気回数約18回/時(オールフレッシュ)、12時間の明暗サイクルに制御されたバリアーシステムの飼育室で飼育した。床敷としてソフトチップ(三協ラボサービス)を敷いたポリカーボネート製箱型ケージに1-6匹ずつ収容し、ケージおよび床敷を週1回の頻度で交換した。実験に供するホモ欠損($Polk^{-/-}$)および同腹の野生型($Polk^{+/+}$)マウスは、 $Polk^{+/-}$ 雌雄を掛け合わせて作出した。

B-5. BaPおよびANFの混餌投与による遺伝毒性試験(条件検討)

余剰の $Polk^{+/-}$ 雌雄マウスを掛け合わせて $Polk^{+/+}$ および $Polk^{-/-}$ マウスを作出し、用量設定のための予備試験を実施した。それぞれの遺伝子型ごとに動物を投与開始日の体重に基づいて、各群の平均体重が近似するように1群3匹の7週齢雄からなる各6群(計12群)に分けた。BaPはコーン油に溶解し、溶媒対照(0%)、非発がん用量(0.003%)、発がん用量(0.01%)の濃度で単独またはCYP1A1

阻害剤である α ナフトフラボン(ANF)(10)と共に粉末基礎飼料に混ぜ、4週間自由摂取させた。実験期間中、一般状態および死亡動物の有無を毎日観察し、体重、摂餌量および飲水量を週1回測定した。動物は投与期間終了後イソフルラン吸入麻酔下で開腹し、腹部大動脈より放血して安楽死させた。剖検を実施して、肺、心臓、脾臓、肝臓、腎臓を摘出し、重量を測定した。また、上記の組織に加え舌、食道、前胃、腺胃、小腸、大腸を摘出した。これらの臓器は10%中性緩衝ホルマリン液で固定した後、常法に従いパラフィン包埋、薄切標本作製後、ヘマトキシリン・エオジン染色を施して病理組織学的検索を実施中である。

(倫理面への配慮)

遺伝子組換え動物実験は国立医薬品食品衛生研究所遺伝子組換え実験安全委員会および動物実験委員会の審査・承認を得て、同所の定める『遺伝子組換え実験安全管理規則』および『動物実験の適正な実施に関する規定』を遵守して行った。特に、動物愛護の精神に則って動物飼育を行い、実験終了時の剖検は深麻酔下で実施し、苦痛の軽減に努めた。また、実験者の健康被害防止のため、被験物質の取扱は安全キャビネット、防塵マスクおよび手袋等を使用して厳重に実施した。

C. 研究結果

C-1. 代謝非依存的なBaP高感受性の抑制に関わるTLSポリメラーゼの探索

代謝非依存的なBaP高感受性がPolk単独欠損細胞のみならず他のTLSポリメラーゼ欠損細胞でも見られるかどうか調べるため、 $Polh^{-/-}$ 、 $Poli^{-/-}$ 、 $Polk^{-/-}$ およびTKO細胞にS9 mix存在下または非存在下で0.1~100 μM のBaPを添加して24時間処理し、4日後の細胞増殖率を測定した。その結果、WT細胞と $Polh^{-/-}$ 細胞はS9 mix添加時のみBaPに対して感受性を示したが、 $Poli^{-/-}$ 欠損細胞はS9 mix添加時のみならず非添加時でもBaPに対して弱い感受性を示した(Fig. 1)。また、TKO細胞は $Polk^{-/-}$ 細胞よりもさらに強い感受性を示した。

C-2. BaPが代謝非依存的に低濃度で遺伝毒性を引き起こす機序の検討

Polk^{-/-}細胞で見られる代謝非依存的BaP感受性が遺伝毒性に起因するか調べるため、DNA二重鎖切断マーカーである γ -H2AX、および複製阻害により活性化するS期チェックポイントキナーゼChk1のリン酸化を解析した。S9 mix存在下または非存在下で2, 10, 50 μ MのBaPをWT細胞および*Polk*^{-/-}細胞に添加し、24時間後に細胞を回収してWestern blotによりそれぞれのDNA損傷応答因子の活性化を調べた。その結果、WT細胞ではS9 mix非存在下のBaP処理ではこれらの因子の活性化は見られなかったのに対して、*Polk*^{-/-}細胞ではS9 mix存在下よりも非存在下で強く活性化が見られた (Fig. 2)。

C-3. *in vivo*遺伝毒性試験に用いる*Polk*欠損マウスの繁殖

Polk^{+/-}マウス雌雄ペアを学習院大学理学部花岡研究室より分与いただき、国立医薬品食品衛生研究所にて維持・繁殖を実施した。平成28年度の研究計画では同腹の*Polk*^{+/+}および*Polk*^{-/-}の雄マウス各30匹を使用する予定であるため、親となる*Polk*^{+/-}雌雄を繁殖させ、56ペアを作出した。これらの*Polk*^{+/-}マウスを交配させて実験に供するマウスを作成するとともに、余剰動物を用いて用量設定のための予備試験を実施した。

C-4. 野生型および*Polk*欠損マウスへのBaPおよびANFの同時投与 (条件検討)

投与期間を通じて、死亡および一般状態の変化は見られず、体重に各群間で有意な差は見られなかった (Table 1, Fig. 3)。臓器重量では*Polk*^{+/+}の0.003% BaP投与群と0.01% BaP+0.1% ANF投与群で心臓の絶対重量低下、0.003%および0.01% BaP投与群で腎臓の絶対重量低下が見られたが、いずれも相対重量には変動が見られなかった (Table 2)。

D. 考察

本研究により、BaPが細胞レベルで代謝非依存的にDNA損傷を誘発すること、その抑制には*Polk*および*Polh*が関与する一方で*Poln*は関与しないことが明らかになった。TKO細胞は非代謝BaPに

対して*Polk*欠損細胞よりもさらに強い感受性を示したことから、*Polk*と*Polh*の欠損は相加的な影響を示すと考えられた。*Polk*はさまざまなDNA付加体を乗り越える活性を持つTLSポリメラーゼであり(11)、非代謝BaPがMEF内で何らかのDNA付加体を形成し、遺伝毒性を引き起こしていることが示唆された。実験動物へのBaP経口投与では前胃、食道、舌といった食物と直接接触する部位が発がん標的臓器であることから(4)、肝酵素による代謝を受けていないBaPが極めて低濃度で遺伝毒性を誘発する可能性が示されたことは食品安全上重要な知見であると考えられた。特に、DNA損傷応答機構に欠損があるゲノム不安定性疾患ではBaPなどの環境変異原に高感受性を示すおそれがあり、*Polk*はヒトの常染色体劣性遺伝病であるXP-Vの責任遺伝子産物である*Poln*(12)と同じファミリーに属することから、XP-V患者が非代謝BaPの遺伝毒性に対して高感受性であることが懸念された。先述のとおり本研究において非代謝BaPに対する感受性は*Polk*欠損細胞および*Polh*欠損細胞のみで見られ、*Poln*欠損細胞では野生型細胞と同様にS9 mixにより代謝活性化されたBaPにのみ感受性を示した。これらの結果はゲノム不安定性疾患のうち、少なくともXP-V患者が非代謝BaPに対して高感受性を示す懸念は小さいことを示唆しており、食品安全行政上も有用な知見であると考えられる。

Polk^{-/-}マウスを用いた*in vivo*遺伝毒性試験の予備実験では、*Polk*^{+/+}、*Polk*^{-/-}マウスともにBaPおよびANFの投与による死亡、一般状態の変化および体重変動はみられなかった。臓器重量では*Polk*^{+/+}の0.003% BaP投与群と0.01% BaP+0.1% ANF投与群で心臓の絶対重量低下、0.003%および0.01% BaP投与群で腎臓の絶対重量低下が見られたが、相対臓器重量には有意な変動が認められなかったことから、個体数が少ないことによるばらつきの影響が大きいと考えられる。これらの結果から、*Polk*^{-/-}マウスに対して発がん用量のBaPとANFの長期間併用投与が可能であることが示唆された。引き続きANF投与によるCYP1A1抑制効果などを検討した上で、*Polk*^{-/-}マウスを用いた*in vitro*遺伝毒性・発がん性試験を実施する。

E. 結論

本研究により、細胞レベルで非代謝のBaPが

Polk および Polt 欠損細胞において遺伝毒性を誘発することが示された。引き続き、上部消化管における CYP 非依存的遺伝毒性の毒性学的意義を検証するために Polk 欠損マウスを用いた BaP および ANF 併用投与実験を実施する。

(参考文献)

1. 環境省 (2007) 化学物質の環境リスク評価 第 5 巻.
2. Friedberg,E.C., Wagner,R. and Radman,M. (2002) Specialized DNA polymerases, cellular survival, and the genesis of mutations. *Science*, **296**, 1627–1630.
3. Ohmori,H., Friedberg,E.C., Fuchs,R.P.P., Goodman,M.F., Hanaoka,F., Hinkle,D., Kunkel,T.A., Lawrence,C.W., Livneh,Z., Nohmi,T., *et al.* (2001) The Y-family of DNA polymerases Molecular cell.
4. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans (2012) BENZO[a]PYRENE. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum.*
5. Uno,S. (2006) Oral Benzo[a]pyrene in Cyp1 Knockout Mouse Lines: CYP1A1 Important in Detoxication, CYP1B1 Metabolism Required for Immune Damage Independent of Total-Body Burden and Clearance Rate. *Mol Pharmacol*, **69**, 1103–1114.
6. Arlt,V.M., Stiborová,M., Henderson,C.J., Thiemann,M., Frei,E., Aimová,D., Singh,R., Gamboa da Costa,G., Schmitz,O.J., Farmer,P.B., *et al.* (2008) Metabolic activation of benzo[a]pyrene in vitro by hepatic cytochrome P450 contrasts with detoxification in vivo: experiments with hepatic cytochrome P450 reductase null mice. *Carcinogenesis*, **29**, 656–665.
7. Ogi,T., Shinkai,Y., Tanaka,K. and Ohmori,H. (2002) Polk protects mammalian cells against the lethal and mutagenic effects of benzo[a]pyrene. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **99**, 15548–15553.
8. Ohkumo,T., Kondo,Y., Yokoi,M., Tsukamoto,T., Yamada,A., Sugimoto,T., Kanao,R., Higashi,Y., Kondoh,H., Tatematsu,M., *et al.* (2006) UV-B radiation induces epithelial tumors in mice lacking DNA polymerase eta and mesenchymal

tumors in mice deficient for DNA polymerase iota. *Mol. Cell. Biol.*, **26**, 7696–7706.

9. Hashimoto,K., Cho,Y., Yang,I.Y., Akagi,J., Ohashi,E., Tateishi,S., de Wind,N., Hanaoka,F., Ohmori,H. and Moriya,M. (2012) The vital role of polymerase ζ and REV1 in mutagenic, but not correct, DNA synthesis across benzo[a]pyrene-dG and recruitment of polymerase ζ by REV1 to replication-stalled site. *J. Biol. Chem.*, **287**, 9613–9622.
10. Hodek,P., Fousova,P., Brabencova,E., Moserová,M., Pavek,P., Anzenbacherova,E., Brotanek,J., Hudecek,J., Frei,E. and Stiborová,M. (2014) Effect of dihydromyricetin on benzo[a]pyrene activation in rats. *Neuro Endocrinol. Lett.*, **35 Suppl 2**, 158–168.
11. Waters,L.S., Minesinger,B.K., Wilttrout,M.E., D'Souza,S., Woodruff,R.V. and Walker,G.C. (2009) Eukaryotic translesion polymerases and their roles and regulation in DNA damage tolerance. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **73**, 134–154.
12. Masutani,C., Kusumoto,R., Yamada,A., Dohmae,N., Yokoi,M., Yuasa,M., Araki,M., Iwai,S., Takio,K. and Hanaoka,F. (1999) The *XPV* (xeroderma pigmentosum variant) gene encodes human DNA polymerase η. *Nature*, **399**, 700–704.

F. 健康危険情報 (該当なし)

G. 研究発表

1. 研究論文 (該当なし)

2. 学会発表

赤木純一¹、横井雅幸²、曹永晩¹、豊田武士¹、花岡文雄²、小川久美子¹

(¹ 国立衛研・病理、² 学習院大・理・生命)

Polη, ι, κ 三重欠損細胞の変異原に対する高感受性は遺伝毒性の指標として有用である
第 74 回日本癌学会学術総会 (2015.10) 名古屋国際会議場

赤木純一¹、横井雅幸²、曹永晩¹、豊田武士¹、大森治夫²、花岡文雄²、小川久美子¹

(¹国立衛研・病理、²学習院大・理・生命)
損傷乗り越え型 DNA ポリメラーゼ $\eta \cdot i \cdot \kappa$ 三重
欠損細胞は様々な機序の遺伝毒性物質に感受性
を示し、遺伝毒性物質のスクリーニングに有用で
ある
BMB2015 第 38 回日本分子生物学会年会、第 88
回日本生化学会大会合同大会 (2015.12) 神戸ポ
ートアイランド

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
(該当なし)
2. 実用新案登録
(該当なし)
3. その他
(該当なし)

Table 1. Body weight and food and chemical intake of *Polk^{+/+}* and *Polk^{-/-}* mice administrated BaP and ANF

Genotype	BaP (%)	ANF (%)	Body weight (g)		Food intake (g/animal/day)	BaP intake (mg/kg BW/day)	ANF intake (mg/kg BW/day)
			initial	final			
<i>Polk^{+/+}</i>	0	0	23.90 ± 1.32	27.2 ± 1.91	3.53	0.0	0.0
	0.003	0	23.17 ± 0.76	25.8 ± 0.35	3.52	4.3	0.0
	0.01	0	23.23 ± 1.14	25.5 ± 1.27	3.53	14.1	0.0
	0	0.1	23.43 ± 1.19	25.2 ± 1.47	3.88	0.0	169.1
	0.003	0.1	23.53 ± 1.47	24.9 ± 1.56	3.46	5.0	167.2
	0.01	0.1	23.37 ± 0.90	24.6 ± 0.46	3.95	13.5	135.4
<i>Polk^{-/-}</i>	0	0	22.20 ± 1.32	24.8 ± 1.39	4.10	0.0	0.0
	0.003	0	22.97 ± 1.71	26.8 ± 1.91	3.49	4.6	0.0
	0.01	0	23.30 ± 1.35	26.0 ± 0.87	4.03	15.7	0.0
	0	0.1	23.20 ± 0.87	25.4 ± 0.97	4.52	0.0	141.8
	0.003	0.1	22.47 ± 1.27	23.8 ± 1.40	3.24	5.9	195.1
	0.01	0.1	23.20 ± 1.51	24.6 ± 0.75	4.37	18.5	185.3

Values are mean±S.D.

Table 2. Organ weights of *Polk*^{+/+} and *Polk*^{-/-} mice administrated with BaP and ANF.

BaP (%)	0	0.003	0.01	0	0.003	0.01
ANF (%)	0	0	0	0.1	0.1	0.1
<i>Polk</i> ^{+/+}						
No. of animals	3	3	3	3	3	3
Body weight (g)	27.2 ± 1.9	25.8 ± 0.4	25.5 ± 1.3	25.2 ± 1.5	24.9 ± 1.6	24.6 ± 0.5
Absolute (g)						
Lungs	0.158 ± 0.020	0.126 ± 0.015	0.113 ± 0.005	0.119 ± 0.011	0.133 ± 0.033	0.110 ± 0.016
Heart	0.168 ± 0.028	0.117 ± 0.006*	0.121 ± 0.013	0.136 ± 0.006	0.136 ± 0.008	0.114 ± 0.008*
Spleen	0.111 ± 0.040	0.063 ± 0.006	0.061 ± 0.002	0.067 ± 0.008	0.071 ± 0.015	0.060 ± 0.001
Liver	1.345 ± 0.271	1.323 ± 0.052	1.269 ± 0.070	1.276 ± 0.213	1.176 ± 0.237	1.188 ± 0.017
Kidneys	0.388 ± 0.040	0.309 ± 0.013*	0.303 ± 0.019*	0.320 ± 0.010	0.334 ± 0.020	0.329 ± 0.030
Relative (%)						
Lungs	0.579 ± 0.055	0.487 ± 0.050	0.442 ± 0.037	0.474 ± 0.067	0.537 ± 0.143	0.448 ± 0.070
Heart	0.620 ± 0.107	0.454 ± 0.021	0.471 ± 0.032	0.540 ± 0.058	0.546 ± 0.056	0.463 ± 0.023
Spleen	0.405 ± 0.123	0.244 ± 0.020	0.239 ± 0.011	0.267 ± 0.047	0.286 ± 0.072	0.245 ± 0.009
Liver	4.925 ± 0.723	5.121 ± 0.132	4.972 ± 0.170	5.039 ± 0.571	4.706 ± 0.782	4.830 ± 0.139
Kidneys	1.425 ± 0.077	1.196 ± 0.039	1.187 ± 0.061	1.269 ± 0.046	1.345 ± 0.130	1.339 ± 0.113
<i>Polk</i> ^{-/-}						
No. of animals	3	3	3	3	3	3
Body weight (g)	24.8 ± 1.4	26.8 ± 1.9	26.0 ± 0.9	25.4 ± 1.0	23.8 ± 1.4	24.6 ± 0.8
Absolute (g)						
Lungs	0.145 ± 0.024	0.141 ± 0.008	0.129 ± 0.015	0.146 ± 0.030	0.116 ± 0.004	0.117 ± 0.013
Heart	0.131 ± 0.017	0.147 ± 0.011	0.141 ± 0.014	0.126 ± 0.008	0.123 ± 0.023	0.129 ± 0.030
Spleen	0.072 ± 0.021	0.082 ± 0.016	0.076 ± 0.027	0.062 ± 0.004	0.061 ± 0.016	0.061 ± 0.010
Liver	1.190 ± 0.124	1.208 ± 0.201	1.292 ± 0.141	1.196 ± 0.042	1.074 ± 0.024	1.101 ± 0.090
Kidneys	0.342 ± 0.025	0.349 ± 0.021	0.347 ± 0.032	0.314 ± 0.005	0.329 ± 0.036	0.341 ± 0.038
Relative (%)						
Lungs	0.583 ± 0.074	0.528 ± 0.031	0.500 ± 0.075	0.576 ± 0.139	0.490 ± 0.017	0.475 ± 0.044
Heart	0.527 ± 0.044	0.551 ± 0.065	0.544 ± 0.072	0.497 ± 0.034	0.513 ± 0.065	0.524 ± 0.114
Spleen	0.290 ± 0.074	0.308 ± 0.060	0.295 ± 0.115	0.245 ± 0.024	0.253 ± 0.049	0.250 ± 0.034
Liver	4.809 ± 0.572	4.495 ± 0.530	4.966 ± 0.388	4.801 ± 0.085	4.527 ± 0.356	4.486 ± 0.441
Kidneys	1.378 ± 0.027	1.305 ± 0.081	1.342 ± 0.171	1.237 ± 0.050	1.379 ± 0.070	1.388 ± 0.140

Values are mean ± S.D. * $p < 0.05$

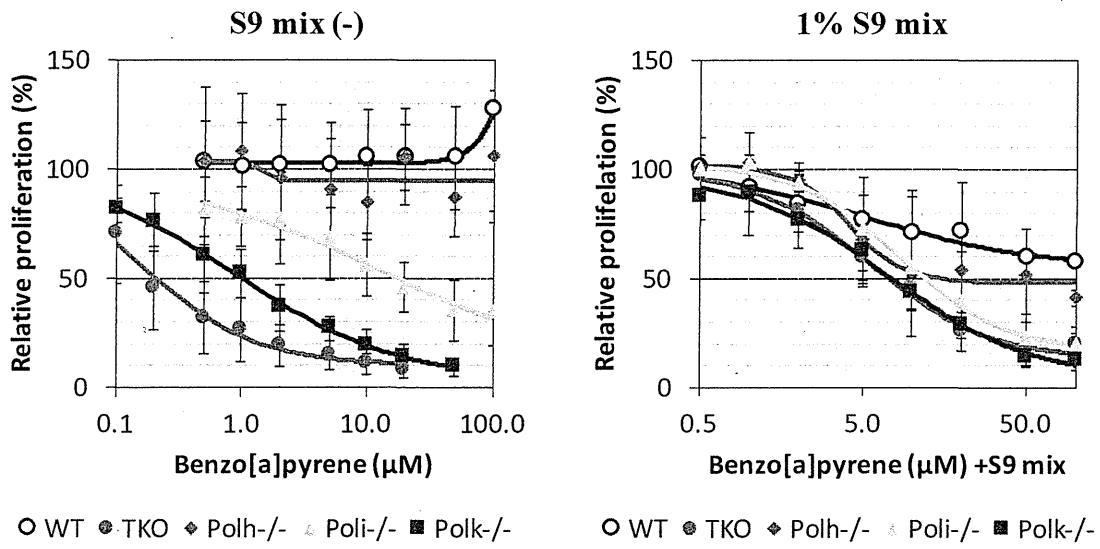


Fig. 1. Cellular sensitivities of TLS-deficient cells to metabolically unactivated or activated BaP

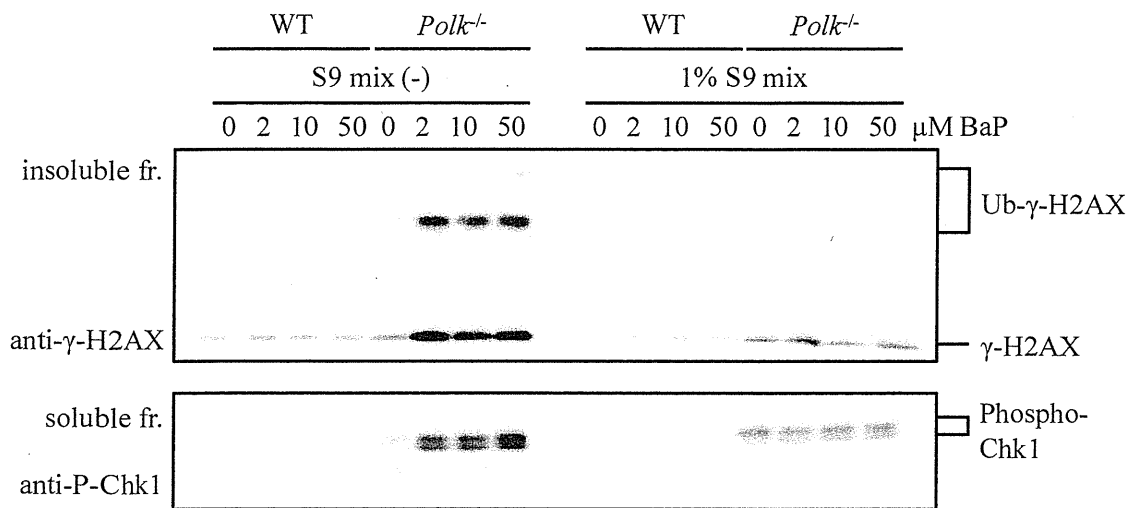


Fig. 2. Activation of DNA-damage responses in *Polk*^{+/+} and *Polk*^{-/-} cells treated with metabolically unactivated or activated BaP

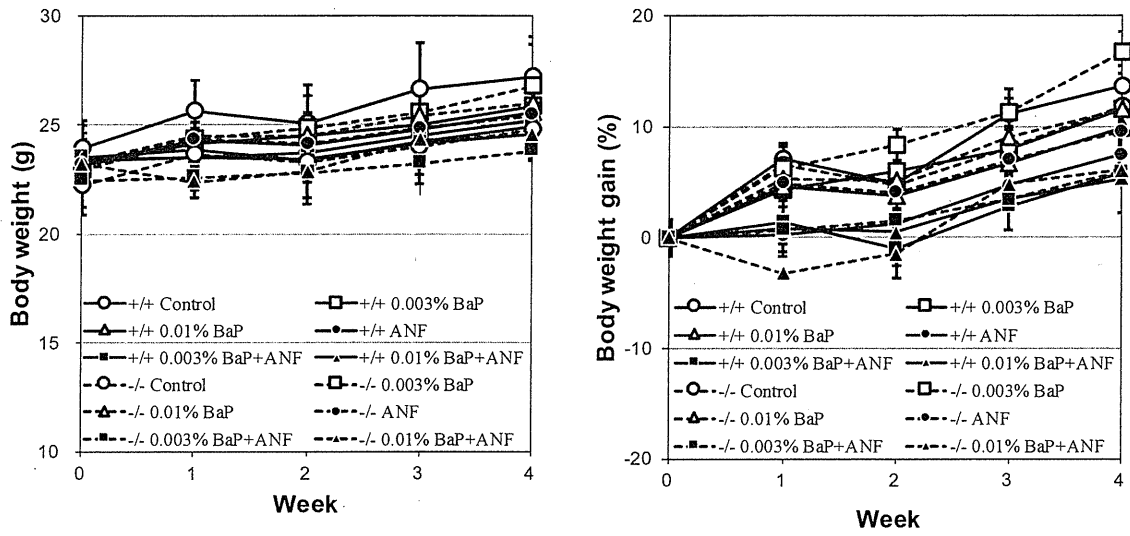


Fig. 3. Body weight and body weight gain of *Polk*^{+/+} and *Polk*^{-/-} mice administrated with BaP and ANF

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	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
該当なし							

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
該当なし					

LHIT LAB.
M-285