

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総合分担研究報告書

化学物質の有害性評価の迅速化・高度化・標準化に関する研究（H29-化学一般-001）
分担研究項目：病理組織発がんマーカーを用いた中期発がんリスク評価法の確立：膀胱発がん物質の評価

研究分担者 豊田武士 国立医薬品食品衛生研究所 病理部 室長

研究要旨

齧歯類を用いた長期がん原性試験の代替法が求められる中で、我々はDNA損傷マーカーとして知られる γ -H2AXの免疫染色による、膀胱発がん物質の早期検出法開発を目指している。これまでに膀胱発がん物質35種、非膀胱発がん物質30種の計65物質について、F344ラットへの28日間経口投与後の膀胱粘膜における γ -H2AX形成の定量解析を実施した。その結果、 γ -H2AX陽性率を指標とした膀胱発がん性の検出感度は82.9% (29/35)、特異度は100% (30/30)であり、28日という短期間の試験で高い精度で予測できることが示された。この結果を受けて、化学物質の膀胱発がん性早期検出を目的とした「膀胱における γ -H2AX免疫染色」を、28日間反復経口投与毒性試験に対する既存のOECDテストガイドライン(TG 407)に、オプションとして追加する改定案を提出した。OECD加盟国・機関からのレビューコメント(用量相関性への懸念)への対応として、2種の膀胱発がん物質(BBNおよびメラミン)について複数用量による検討を行った結果、膀胱粘膜における γ -H2AX形成は明瞭な用量相関性を示すことを確認した。本手法は化学物質の安全性評価において広く実施されている、既存の28日間反復投与試験への組み込みが容易であり、化学物質の効率的かつ迅速なリスク評価法として有用と考えられる。

A. 研究目的

齧歯類を用いた長期がん原性試験の代替法が求められる中で、我々は免疫組織化学的バイオマーカーを用いた、膀胱発がん物質の早期検出法開発を目指している。これまでに我々は、DNA損傷マーカーである γ -H2AX形成を指標として、膀胱発がん物質の早期検出が可能であることを明らかにしてきた。本試験系は化学物質の安全性評価において広く実施されている28日間反復経口投与毒性試験の検体を用いて、免疫組織化学的手法を追加することで実施できる点を特色とし、化学物質の効率的かつ迅速なリスク評価に寄与し得ると考えられる。

B. 研究方法

これまでに、遺伝毒性・膀胱発がん物質22種、非遺伝毒性・膀胱発がん物質13種、遺伝毒性・非膀胱発がん物質16種、非遺伝毒性・非膀胱発がん物質6種、遺伝毒性・非発がん物質4種、非遺伝毒性・非発がん物質4種の、計65物質について検討した。6週齢、雄または雌のF344ラット(日本チャールス・リバー)に、各物質を4週間経口投与した。各被験物質の投与濃度および経路は、報告されている発がん用量または4週間の最大耐量に基づき設定した。

用量相関性の検討として、6週齢の雄F344ラットに遺伝毒性膀胱発がん物質である*N*-butyl-*N*-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BBN) または非遺伝毒性膀胱発がん物質であるメラミンを、それぞれ0, 0.0001, 0.001, 0.01, 0.02, 0.05% (飲水) および0, 0.3, 1, 3% (混餌) の用量で2日または4週間投与した。

膀胱の採材方法は、先行研究(吉見班:H26-化学-指定-001)で作成した多施設での共通臓器処理マニユア

ルに従った。膀胱のホルマリン固定パラフィン包埋標本を作製し、免疫組織化学的手法により γ -H2AX形成および細胞増殖マーカーであるKi67の定量解析を実施した。膀胱粘膜上皮における γ -H2AXおよびKi67陽性細胞数をカウントし、陽性率を対照群と比較した。

(倫理面への配慮)

動物の数は最小限にとどめ、実験は国立医薬品食品衛生研究所の実験動物取扱い規定に基づき、動物の苦痛を最小限とするよう配慮して行った。

C. 研究結果

計65物質について、膀胱粘膜上皮細胞における γ -H2AX形成を免疫組織化学的に検索した。上皮細胞1000個あたりの γ -H2AX陽性率を算出した結果、遺伝毒性膀胱発がん物質22種、非遺伝毒性膀胱発がん物質13種のうち、それぞれ20種および9種の投与群において、 γ -H2AX陽性率の有意な増加が認められた(図1)。膀胱を標的としない発がん物質および非発がん物質については、検索した30種すべてが陰性であった。以上より、 γ -H2AX陽性率を指標とした膀胱発がん物質検出の感度は82.9% (29/35)、特異度は100% (30/30)であった(図2)。

BBNおよびメラミンの複数用量による検討では、投与開始後2日目の時点では、いずれの投与群にも病理所見は認められなかった。4週時点では、BBNの0.01%以上投与群およびメラミンの3%投与群で、過形成等の病理組織学的変化が認められた。BBN投与群では2日・4週いずれの時点でも、膀胱粘膜上皮における γ -H2AX・Ki67陽性率はそれぞれ0.001%以上・0.01%以上の投与群で用量相関性を伴って有意に増加した(図3, 4)。メ

ラミン投与群では、 γ -H2AX・Ki67 陽性率は2日・4週時点でもとも最高用量の3%群でのみ有意に増加した(図5, 6)。メラミン投与群(0.3%以上)におけるKi67発現は、2日目の時点で一過性の有意な増加を示した。

γ -H2AX およびKi67の多重免疫蛍光染色を実施した結果、メラミン投与群では γ -H2AX 陽性細胞の大半がKi67 発現細胞と一致していた一方、BBN 投与群では共発現細胞のみならず、 γ -H2AX 単独陽性細胞も多く認められた(図7)。

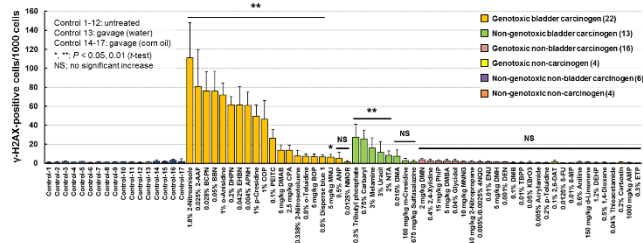


図1. ラット膀胱粘膜上皮細胞における γ -H2AX 陽性率の解析結果(国立衛研担当分)。

		ラット膀胱に対する発がん性	
		+	-
膀胱上皮における γ -H2AX 形成	+	29 2-NA, 2-AAF, BCPN, BBN, α -Anisidine, DHPN, EHBN, APNH, <i>p</i> -Cre, COP, PEITC, DMAB, CPA, 2-NT, α -Toluidine, BOP, DB1, MNU, TBP, Carbaryl, Melamine, Uracil, NTA, ADBAQ, PNC, AUDA, SOPP, NDPA, iAs(III)	0
	-	6 ANP, NMOR, DMA, <i>m</i> -Cre, SSZ, PGZ	30 DMN, 2,4-Xylidine, PhiP, DMBA, Glycidol, MNNG, 2-NP, 4NQO, ENU, DMH, DEN, DMB, TBPP, KBrO ₃ , AA, <i>p</i> -Toluidine, 2,6-DAT, 5-FU, 6-MP, Aniline, α -Limonene, DEHP, DO, TAA, CBX, AMP, ETP, 8-HQ, RGZ, 1-NP

感度 = 82.9%(29/35)、特異度 = 100%(30/30)

図2. 膀胱上皮における γ -H2AX 形成を指標としたラット膀胱発がん性の検出感度および特異度。

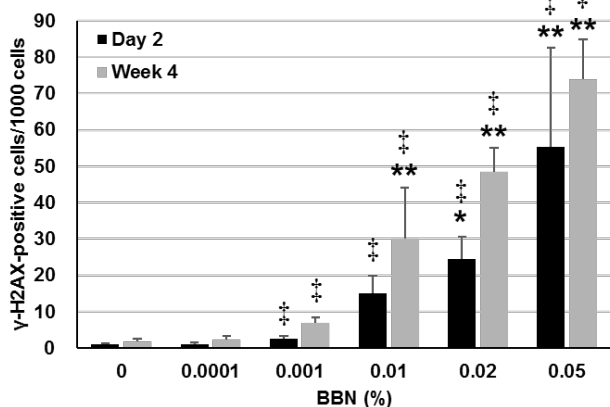


図3. BBN 投与ラット膀胱粘膜上皮における γ -H2AX 陽性率。*; $P < 0.01$ (Dunnett 多群検定), †; $P < 0.01$ (Jonckheere 傾向検定)。

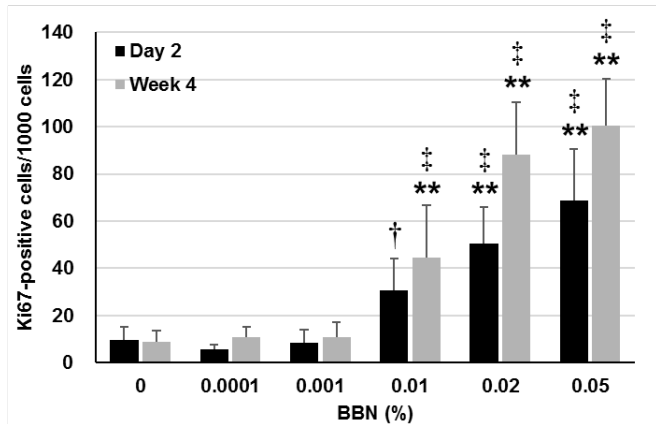


図4. BBN 投与ラット膀胱粘膜上皮におけるKi67 陽性率。*; $P < 0.01$ (Dunnett 多群検定), †, ‡; $P < 0.05$, 0.01 (Jonckheere 傾向検定)。

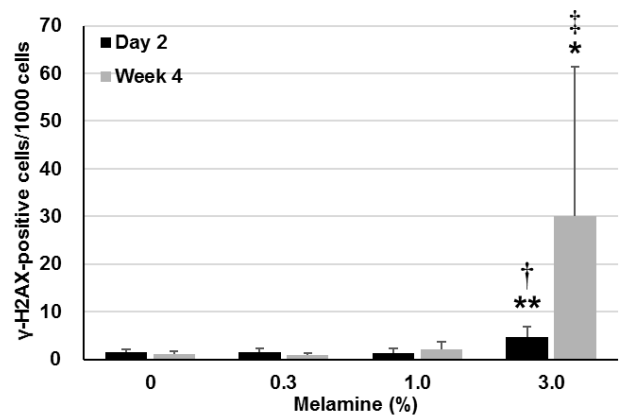


図5. メラミン投与ラット膀胱粘膜上皮における γ -H2AX 陽性率。*, **; $P < 0.05$, 0.01 (Dunnett 多群検定), †, ‡; $P < 0.05$, 0.01 (Jonckheere 傾向検定)。

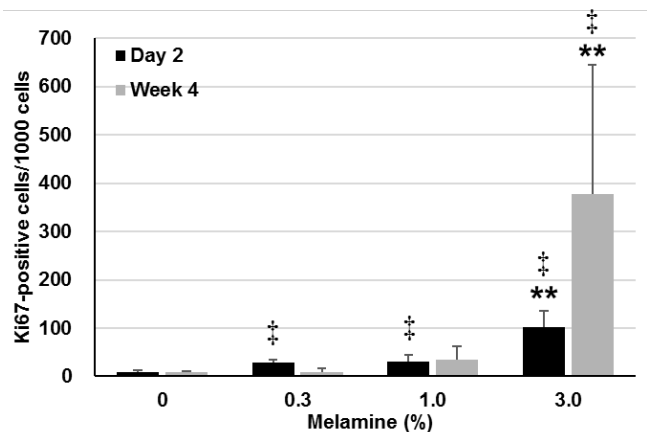


図6. メラミン投与ラット膀胱粘膜上皮におけるKi67 陽性率。*; $P < 0.01$ (Dunnett 多群検定), †; $P < 0.01$ (Jonckheere 傾向検定)。

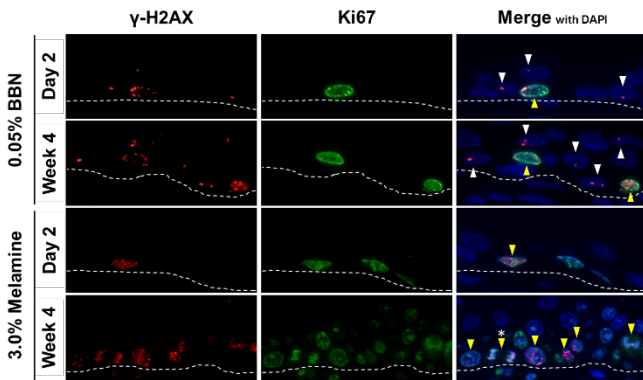


図 7. BBN およびメラミン投与ラット膀胱粘膜における γ -H2AX/Ki67 免疫蛍光染色。 γ -H2AX 単独陽性細胞（白矢頭）、 γ -H2AX/Ki67 共発現細胞（黄矢頭）。

OECD TEST GUIDELINES PROGRAMME	
Standard Project Submission Form	
If you require further information please contact the OECD Secretariat Return completed forms to: Anne Gourmelon (anne.gourmelon@oecd.org) and Christina Quaglio (christina.quaglio@oecd.org)	
PROJECT TITLE	
Update of the repeated dose oral toxicity 28-day study (OECD TG 407) with optional inclusion of immunohistochemistry for γ -H2AX in the urinary bladder	
SUBMITTED BY (Country / European Commission / Secretariat)	
Japan	
DATE OF SUBMISSION TO THE SECRETARIAT	
31 October 2018	
DETAILS OF LEAD COUNTRY/CONSORTIUM	
Country /Organisation:	Japan
Agency/ministry/Other:	National Institute of Health Sciences, NIHS / Ministry of Health, Labour and Welfare, MHLW
Mail Address:	NIHS: 3-25-26 Tonomachi, Kawasaki-ku, Kawasaki 210-9501, Japan/ MHLW: 1-2-2 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8916, Japan
Phone/fax:	NIHS: (phone) +81-44-270-6651, (fax) +81-44-270-6655/ MHLW: (phone) +81-3-3595-2298
Email:	NIHS: t-toyoda@nihs.go.jp MHLW: tsukano-masaaki12@mhlw.go.jp

図 8. 既存の OECD テストガイドライン (TG 407) に、 γ -H2AX 免疫染色による膀胱発がん性早期検出法の追加を提案する SPSF (表紙)。

D. 考察

これまでの検討結果から、 γ -H2AX 免疫染色によって化学物質のラット膀胱に対する発がん性を、感度 82.9% (29/35) および特異度 100% (30/30) と、28 日という短期間の試験で高い精度で予測できることが示された。この結果を受けて、「膀胱における γ -H2AX 免疫染色」を、28 日間反復経口投与毒性試験に対する既存の OECD テストガイドライン (TG 407) に追加する改定案 (Standard Project Submission Form; SPSF) を、平成 30 年 11 月に厚生労働省を通じて提出した (図 8)。

本改定案は化学物質の膀胱発がん性早期検出を目的として、膀胱を用いた γ -H2AX 免疫染色をオプションとして追加するものである。免疫染色は多くの研究機関で実施されている一般的な解析手法であり、既存の試験への組み込みが容易である。また、早期に発がん性を検出することで、不要な長期がん原性試験の実施を回避でき、実験動物の 3R にも貢献し得る。

提出した改定案に対し、OECD 加盟国・機関から多く

のレビューコメントを頂いた。令和元年度はこれらの指摘のうち、非発がん物質の評価が不足していること、および γ -H2AX 形成の用量相関性が不明であることへの対応として、非発がん物質を中心に新たに 5 物質の追加検討を行った。また、遺伝毒性および非遺伝毒性膀胱発がん物質の代表として、それぞれ BBN およびメラミンを用いて、 γ -H2AX 形成が明瞭な用量相関性を示すことを確認した。

用量相関性を検討した実験では、BBN 投与群の膀胱における γ -H2AX 形成の有意な増加は、過形成等の病理組織学的所見および Ki67 発現増加が生じる用量 (0.01%) よりも低い用量 (0.001%) から認められ、 γ -H2AX がより鋭敏な指標であることが明らかとなった。また、BBN・メラミン投与群における γ -H2AX 陽性細胞は、いずれも投与開始後 2 日目の時点で有意な増加を示しており、より短期間の試験にも応用できる可能性が示唆された。一方で、いずれの投与群においても、4 週時点での γ -H2AX 陽性率が 2 日目よりも高いことから、28 日間投与試験への組み込みが適していると考えられる。

多重免疫蛍光染色を用いた解析では、 γ -H2AX・Ki67 陽性細胞の局在パターンが、BBN・メラミン投与群では互いに異なることが明らかとなった。遺伝毒性発がん物質である BBN の投与群には γ -H2AX 単独陽性細胞が多数認められ、直接的な DNA 損傷が生じていることが示唆された。一方、メラミンは膀胱結石による物理的刺激を介して、尿路上皮細胞の増殖活性を高めることが知られている。メラミン投与群における γ -H2AX 形成の大半が Ki67 陽性細胞に生じている事実は、細胞増殖活性の増加に伴う複製エラー等、二次的な DNA 損傷の関与を示唆すると考えられる。以上の結果から、膀胱発がん過程における遺伝毒性機序の関与の有無を、病理組織標本上で評価し得る可能性が示された。

E. 結論

本研究の結果から、 γ -H2AX 免疫染色は、化学物質の膀胱発がん性早期検出法として有用であることが示された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yamada T, Toyoda T, Matsushita K, Morikawa T, Ogawa K. Dose dependency of γ -H2AX formation in the rat urinary bladder treated with genotoxic and nongenotoxic bladder carcinogens. J Appl Toxicol. in press
- 2) Matsushita K, Toyoda T, Yamada T, Morikawa T, Ogawa K. Comprehensive expression analysis of mRNA and microRNA for investigation of compensatory mechanisms in the rat kidney after unilateral nephrectomy. J Appl Toxicol. in press
- 3) Furihata C, You X, Toyoda T, Ogawa K, Suzuki T. Using FFPE RNA-Seq with 12 marker genes to evaluate genotoxic and non-genotoxic rat hepatocarcinogens. Genes Environ. 2020; 42: 15.

- 4) Matsushita K, Toyoda T, Morikawa T, Ogawa K. A 13-week subchronic toxicity study of vanillin propylene glycol acetal in F344 rats. *Food Chem Toxicol.* 2019; 132: 110643.
 - 5) Toyoda T, Matsushita K, Morikawa T, Yamada T, Miyoshi N, Ogawa K. Distinct differences in the mechanisms of mucosal damage and γ -H2AX formation in the rat urinary bladder treated with *o*-toluidine and *o*-anisidine. *Arch Toxicol.* 2019; 93: 753-62.
 - 6) Toyoda T, Cho YM, Matsushita K, Tachibana S, Senuma M, Akagi J, Ogawa K. A 13-week subchronic toxicity study of hexyl acetate in SD rats. *J Toxicol Pathol.* 2019; 32: 205-12.
 - 7) Toyoda T, Cho YM, Akagi J, Mizuta Y, Matsushita K, Nishikawa A, Imaida K, Ogawa K. A 13-week subchronic toxicity study of acetaminophen using an obese rat model. *J Toxicol Sci.* 2018; 43: 423-33.
 - 8) Sone M, Toyoda T, Cho YM, Akagi J, Matsushita K, Mizuta Y, Morikawa T, Nishikawa A, Ogawa K. Immunohistochemistry of γ -H2AX as a method of early detection of urinary bladder carcinogenicity in mice. *J Appl Toxicol.* 2019; 39: 868-76.
 - 9) Yang Q, Yasuda T, Choi E, Toyoda T, Roland JT, Uchida E, Yoshida H, Seto Y, Goldenring JR, Nomura S. MEK inhibitor reverses metaplasia and allows re-emergence of normal lineages in *Helicobacter pylori*-infected gerbils. *Gastroenterology.* 2019; 156: 577-81.
 - 10) Hirata T, Cho YM, Suzuki I, Toyoda T, Akagi J, Nakamura Y, Numasawa S, Ogawa K. 4-Methylthio-3-butenyl isothiocyanate (MTBITC) induced apoptotic cell death and G2/M cell cycle arrest via ROS production in human esophageal epithelial cancer cells. *J Toxicol Sci.* 2019; 44: 73-81.
 - 11) Funahashi S, Okazaki Y, Nagai H, Chew SH, Ogawa K, Toyoda T, Cho YM, Toyokuni S. Twist1 was detected in mesenchymal cells of mammary fibroadenoma and invasive components of breast carcinoma in rats. *J Toxicol Pathol.* 2019; 32: 19-26.
 - 12) Tanoue Y, Toyoda T, Sun J, Mustofa MK, Tateishi C, Endo S, Motoyama N, Araki K, Wu D, Okuno Y, Tsukamoto T, Takeya M, Ihn H, Vaziri C, Tateishi S. Differential roles of Rad18 and Chk2 in genome maintenance and skin carcinogenesis following UV exposure. *J Invest Dermatol.* 2018; 138: 2550-7.
 - 13) Matsushita K, Toyoda T, Morikawa T, Takahashi M, Inoue K, Ogawa K. A 13-week subchronic toxicity study of 2-ethylbutanal in F344 rats. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2018; 100: 118-26.
 - 14) Akagi J, Cho YM, Mizuta Y, Toyoda T, Ogawa K. Subchronic toxicity evaluation of 5-hexenyl isothiocyanate, a nature identical flavoring substance from *Wasabia japonica*, in F344/DuCrj rats. *Food Chem Toxicol.* 2018; 122: 80-6.
 - 15) Furihata C, Toyoda T, Ogawa K, Suzuki T. Using RNA-Seq with 11 marker genes to evaluate 1,4-dioxane compared with typical genotoxic and non-genotoxic rat hepatocarcinogens. *Mutat Res.* 2018; 834: 51-5.
 - 16) Toyoda T, Totsuka Y, Matsushita K, Morikawa T, Miyoshi N, Wakabayashi K, Ogawa K. γ -H2AX formation in the urinary bladder of rats treated with two norharman derivatives obtained from *o*-toluidine and aniline. *J Appl Toxicol.* 2018; 38: 537-43.
 - 17) Cho YM, Mizuta Y, Akagi J, Toyoda T, Sone M, Ogawa K. Size-dependent acute toxicity of silver nanoparticles in mice. *J Toxicol Pathol.* 2018; 31: 73-80.
 - 18) Hirata T, Cho YM, Suzuki I, Toyoda T, Akagi J, Nakamura Y, Numasawa S, Ogawa K. 4-Methylthio-3-butenyl isothiocyanate mediates nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2 activation by regulating reactive oxygen species production in human esophageal epithelial cells. *Food Chem Toxicol.* 2018; 111: 295-301.
 - 19) Akagi J, Yokoi M, Cho YM, Toyoda T, Ohmori H, Hanaoka F, Ogawa K. Hypersensitivity of mouse embryonic fibroblast cells defective for DNA polymerases η , ι and κ to various genotoxic compounds: Its potential for application in chemical genotoxic screening. *DNA Repair.* 2017; 61: 76-85.
 - 20) Takeshima H, Niwa T, Toyoda T, Wakabayashi M, Yamashita S, Ushijima T. The degree of methylation burden is determined by the exposure period to carcinogenic factors. *Cancer Sci.* 2017; 108: 316-21.
2. 学会発表
 - 1) 豊田武士、山田貴宣、井手鉄哉、松下幸平、森川朋美、小川久美子. F344 ラットの小腸に認められた神経筋血管過誤腫の一例. 第7回日本獣医病理学専門家協会学術集会、宮崎 (2020年3月)
 - 2) Toyoda T, Yamada T, Matsushita K, Morikawa T, Ogawa K. Mucosal damage and γ -H2AX formation in the rat urinary bladder induced by aromatic amines with structures similar to that of *o*-toluidine. 59th Annual Meeting of the Society of Toxicology, Anaheim (2020年3月)
 - 3) 豊田武士、山田貴宣、松下幸平、赤木純一、曹永晚、森川朋美、小川久美子. 腎発がん物質早期検出指標としての γ -H2AXの応用可能性:至適評価時点の検討. 第36回日本毒性病理学会総会及び学術集会、

- 東京 (2020 年 2 月)
- 4) 豊田武士、山田貴宣、松下幸平、小川久美子. 病理学的手法による膀胱発がん性の早期検出および機序解明. 第 2 回医薬品毒性機序研究会、川崎 (2020 年 1 月)
 - 5) 豊田武士、山田貴宣、小川久美子. オルト-トルイジン類似構造を有する芳香族アミンによるラット膀胱粘膜傷害および γ -H2AX 形成. 第 78 回日本癌学会学術総会、京都 (2019 年 9 月)
 - 6) 豊田武士、山田貴宣、松下幸平、曹永晩、赤木純一、森川朋美、水田保子、西川秋佳、小川久美子. γ -H2AX を指標とした膀胱発がん物質早期検出法. 第 46 回日本毒性学会学術年会、徳島 (2019 年 6 月)
 - 7) Yamada T, Toyoda T, Matsushita K, Morikawa T, Ogawa K. Dose- and time-dependent formation of γ -H2AX, a biomarker for early detection of bladder carcinogens, and its potential role in tumorigenesis in the rat urinary bladder. 59th Annual Meeting of the Society of Toxicology, Anaheim (2020 年 3 月)
 - 8) 赤木純一、曹永晩、豊田武士、水田保子、井手鉄哉、西川秋佳、小川久美子. 肝発がん物質投与ラット肝臓における γ -H2AX 陽性細胞率の検討. 第 36 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、東京 (2020 年 2 月)
 - 9) 松下幸平、豊田武士、山田貴宣、森川朋美、小川久美子. 急性腎障害から慢性腎臓病への進展を早期に予測する新規評価分子の探索. 第 36 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、東京 (2020 年 2 月)
 - 10) 山田貴宣、豊田武士、松下幸平、森川朋美、小川久美子. BBN 誘発ラット膀胱発がん過程における Hepatocyte growth factor (HGF) の関与. 第 36 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、東京 (2020 年 2 月)
 - 11) 松下幸平、豊田武士、山田貴宣、森川朋美、小川久美子. 慢性腎臓病における再生機構の破綻した尿細管による線維化促進メカニズムの解明. 第 2 回医薬品毒性機序研究会、川崎 (2020 年 1 月)
 - 12) 田島悠也、豊田武士、平山裕一郎、橋詰力、松下幸平、小川久美子、渡辺賢二、戸塚ゆ加里、若林敬二、三好規之: DNA 付加体を形成する膀胱発がん性芳香族アミン *o*-toluidine 代謝物の分析、ACEM/JEMS 2019、東京 (2019 年 11 月)
 - 13) 降旗千恵、尤馨悦、豊田武士、小川久美子、鈴木孝昌. 肝がん原物質 2-アセチルアミノフルオレンと *p*-クレシジンの遺伝毒性を FFPE-RNA-Seq で評価. ACEM/JEMS 2019、東京 (2019 年 11 月)
 - 14) 田島悠也、豊田武士、平山裕一郎、橋詰力、松下幸平、小川久美子、渡辺賢二、戸塚ゆ加里、若林敬二、三好規之. 膀胱発がん性芳香族アミン *o*-toluidine の DNA 付加体および代謝物分析. 第 8 回食品薬学シンポジウム、静岡 (2019 年 10 月)
 - 15) 山田貴宣、豊田武士、小川久美子. ラット膀胱発がん過程における γ -H2AX 及び膀胱がん幹細胞マーカー陽性細胞の役割. 第 78 回日本癌学会学術総会、京都 (2019 年 9 月)
 - 16) 赤木純一、曹永晩、豊田武士、横井雅幸、花岡文雄、小川久美子. ベンゾ[*a*]ピレンおよび α -ナフトフルラボン併用投与による腫瘍形成における Pol κ 欠損の影響. 第 78 回日本癌学会学術総会、京都 (2019 年 9 月)
 - 17) Ogawa K, Cho YM, Ide T, Akagi J, Toyoda T, Yamashita S, Hirata T. Size-dependent toxicity of silver nanoparticles. Global Summit on Regulatory Science 2019, Ispra (2019.9)
 - 18) 曹永晩、水田保子、赤木純一、豊田武士、井手鉄哉、小川久美子. 腹腔内投与銀ナノ粒子による BALB/c マウスの急性毒性における N-acetyl-l-cysteine の影響. 第 5 回次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエンスフォーラム、東京 (2019 年 9 月)
 - 19) 曹永晩、水田保子、赤木純一、井手鉄哉、豊田武士、山下修司、平田岳史、小川久美子. 腹腔内投与銀ナノ粒子による BALB/c マウスの急性毒性に関する検討. 第 34 回発癌病理研究会、鳥羽 (2019 年 8 月)
 - 20) Matsushita K, Toyoda T, Morikawa T, Yamada T, Ogawa K. The toxicological profiles of 1,3-dichloro-2-propanol determined by a repeated-dose 28-day oral toxicity study in F344 rats. IUTOX 15th International Congress of Toxicology, Honolulu (2019.7)
 - 21) Cho YM, Akagi J, Mizuta Y, Ide T, Toyoda T, Ogawa K. Effects of antioxidant and inhibitor of γ -glutamylcysteine synthetase on acute toxicity of silver nanoparticles intraperitoneally administered in BALB/c mice. IUTOX 15th International Congress of Toxicology, Honolulu (2019.7)
 - 22) 田島悠也、豊田武士、平山裕一郎、橋詰力、松下幸平、小川久美子、渡辺賢二、戸塚ゆ加里、若林敬二、三好規之. メタボローム解析による膀胱発がん性芳香族アミン化合物の活性代謝物の解明. 第 26 回日本がん予防学会総会、札幌 (2019 年 6 月)
 - 23) 松下幸平、豊田武士、山田貴宣、森川朋美、小川久美子. 腎臓の再生尿細管及び線維化病変内の尿細管における Survivin、SOX9 及び CD44 の発現. 第 46 回日本毒性学会学術年会、徳島 (2019 年 6 月)
 - 24) 井手鉄哉、山下修司、平田岳史、水田保子、赤木純一、豊田武士、曹永晩、小川久美子. レーザープラズマ質量分析計を用いたナノ粒子イメージングによる銀ナノ粒子の粒径依存的な肝毒性メカニズム検証の試み. 第 46 回日本毒性学会学術年会、徳島 (2019 年 6 月)
 - 25) 山田貴宣、豊田武士、松下幸平、森川朋美、小川久美子. BBN 誘発ラット膀胱発がん過程における γ -H2AX 形成及び膀胱がん幹細胞マーカー発現の経時的変化. 第 46 回日本毒性学会学術年会、徳島 (2019 年 6 月)
 - 26) 森川朋美、豊田武士、松下幸平、山田貴宣、小川久美子. ラットを用いた 2-(1-メントキシ)エタノールの 90 日間亜慢性反復経口投与毒性試験. 日本

- 食品化学学会第 25 回総会・学術大会、松本 (2019 年 6 月)
- 27) 野村幸世、豊田武士. MEK 阻害剤 Selumetinib による *H. pylori* 感染スナネズミ胃粘膜の化生粘膜の回復. 第 97 回日本消化器内視鏡学会総会、東京 (2019 年 6 月)
- 28) Nomura S, Toyoda T, Ishibashi Y, Ohmoto Y, Ohtsu H, Yasuda T, Seto Y, Goldenring JR. Evaluation of serum TFF3 levels in gastric cancer patients long after gastrectomy and the origin of high serum TFF3 in gastric cancer animal models. Digestive Disease Week 2019, San Diego (2019 年 5 月)
- 29) 野村祐介、藤澤彩乃、松下幸平、豊田武士、福井千恵、森下裕貴、小川久美子、鄭雄一、中村義一、齋島由二. RNA アプタマーを利用した機能性医療材料開発. 日本薬学会第 139 年会、千葉 (2019 年 3 月)
- 30) Cho YM, Akagi J, Mizuta Y, Toyoda T, Ogawa K. Effects of N-acetyl-L-cysteine on acute toxicity of silver nanoparticles intraperitoneally administered in BALB/c mice. 58th Annual Meeting of the Society of Toxicology, Baltimore (2019 年 3 月)
- 31) 豊田武士、山田貴宣、松下幸平、森川朋美、小川久美子. 膀胱発がん物質投与初期における遺伝子発現解析および新規膀胱発がんマーカーの探索. 第 35 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、東京 (2019 年 2 月)
- 32) 松下幸平、豊田武士、山田貴宣、森川朋美、小川久美子. 1,3-Dichloro-2-propanol の F344 ラットを用いた 28 日間反復強制経口投与による毒性プロファイルの検索. 第 35 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、東京 (2019 年 2 月)
- 33) 山田貴宣、豊田武士、松下幸平、森川朋美、小川久美子. 膀胱発がん物質投与による γ -H2AX 形成の用量相関性及び経時的変化. 第 35 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、東京 (2019 年 2 月)
- 34) 赤木純一、曹永晩、豊田武士、横井雅幸、花岡文雄、大森治夫、小川久美子. C57BL/6J 野生型および Pol κ 欠損マウスにおけるベンゾ[a]ピレンおよび α -ナフトフラボン併用投与の効果. 第 35 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、東京 (2019 年 1 月)
- 35) 曹永晩、水田保子、赤木純一、豊田武士、井手鉄哉、小川久美子. 腹腔内投与銀ナノ粒子による BALB/c マウスの急性毒性における抗酸化剤の影響. 第 35 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、東京 (2019 年 1 月)
- 36) Tajima Y, Toyoda T, Hirayama Y, Hashidume T, Matsushita K, Yamada T, Ogawa K, Watanabe K, Totsuka Y, Wakabayashi K, Miyoshi N. Metabolomics and DNA adductome analysis of urinary bladder carcinogen *o*-toluidine. The 23rd Shizuoka Forum on Health and Longevity, Shizuoka (2018 年 11 月)
- 37) Tajima Y, Toyoda T, Hirayama Y, Hashidume T, Matsushita K, Yamada T, Ogawa K, Watanabe K, Totsuka Y, Wakabayashi K, Miyoshi N. Metabolomics and DNA adductome analysis of urinary bladder carcinogen *o*-toluidine. The 4th International Conference on Pharma-food General Information, Shizuoka (2018 年 11 月)
- 38) Akagi J, Cho YM, Toyoda T, Mizuta Y, Yokoi M, Hanaoka F, Ohmori H, Ogawa K. Benzo[a]pyrene-induced tumorigenesis in Pol κ -knockout mice. 3R&3C Symposium, Kanazawa (2018 年 11 月)
- 39) 野村祐介、藤澤彩乃、松下幸平、豊田武士、福井千恵、森下裕貴、小川久美子、鄭雄一、中村義一、齋島由二. RNA アプタマーを用いた新規骨再生用材料の *in vivo* 性能評価. 第 40 回日本バイオマテリアル学会大会、神戸 (2018 年 11 月)
- 40) 野村幸世、豊田武士、菅原寧彦. 胃癌バイオマーカーとしての血清 TFF3 の起源とその上昇機序の解明. 第 22 回日本肝臓学会大会、神戸 (2018 年 11 月)
- 41) 田島悠也、豊田武士、平山裕一郎、橋詰力、松下幸平、小川久美子、渡辺賢二、戸塚ゆかり、若林敬二、三好規之. 膀胱発がん性芳香族アミン *o*-toluidine の代謝物分析と DNA 付加体. 日本環境変異原学会第 47 回大会、京都 (2018 年 11 月)
- 42) 降旗千恵、豊田武士、小川久美子、鈴木孝昌. RNA-Seq による 1,4-ジオキサン (DO) のラット肝臓における遺伝子発現プロファイル: 遺伝毒性および非遺伝毒性肝発がん物質との比較. 日本環境変異原学会第 47 回大会、京都 (2018 年 11 月)
- 43) 豊田武士、山田貴宣、三好規之、小川久美子. 芳香族アミン誘発ラット膀胱発がん過程の初期段階における遺伝子発現動態. 第 77 回日本癌学会学術総会、大阪 (2018 年 9 月)
- 44) 山田貴宣、豊田武士、小川久美子. 幹細胞マーカー免疫染色による膀胱発がん物質の早期検出. 第 77 回日本癌学会学術総会、大阪 (2018 年 9 月)
- 45) 保田智彦、吉田寛、内田英二、豊田武士、瀬戸泰之、野村幸世. MEK 阻害剤によるヘリコバクター・ピロリ菌感染スナネズミ胃粘膜の回復. 第 77 回日本癌学会学術総会、大阪 (2018 年 9 月)
- 46) 保田智彦、Qing Yang、豊田武士、Eunyoung Choi、内田英二、吉田寛、瀬戸泰之、James R. Goldenring、野村幸世. MEK 阻害剤 Selumetinib による *H. pylori* 感染スナネズミ胃粘膜における化生粘膜の回復. 第 27 回消化器疾患病態治療研究会、高知 (2018 年 9 月)
- 47) Cho YM, Akagi J, Mizuta Y, Toyoda T, Tamehiro N, Kimura Y, Adachi R, Ogawa K. Dose-dependent sensitization effects of transcutaneously exposed acid-hydrolyzed wheat protein. 16th European Congress of Toxicologic Pathology, Brussels (2018 年 9 月)
- 48) 豊田武士、山田貴宣、鈴木周五、松下幸平、曹永晩、赤木純一、森川朋美、水田保子、西川秋佳、小川久美子. γ -H2AX を指標とした化学物質の膀胱発がん性早期検出系の開発. 第 33 回発癌病理研究会、御殿場 (2018 年 8 月)

- 49) 三好規之、田島悠也、豊田武士、戸塚ゆ加里、松下幸平、小川久美子、若林敬二. 芳香族アミン類の代謝物分析と DNA 付加体. 第 33 回発癌病理研究会、御殿場 (2018 年 8 月)
- 50) 豊田武士、松下幸平、森川朋美、山田貴宣、小川久美子. 膀胱発がん性芳香族アミンの短期投与によるラット膀胱粘膜遺伝子発現動態への影響. 第 45 回日本毒性学会学術年会、大阪 (2018 年 7 月)
- 51) 曹永晩、赤木純一、水田保子、豊田武士、小川久美子. コレラトキシン及びコレラトキシン B サブユニットの経皮曝露感作性試験におけるアジュバントとしての可能性. 第 45 回日本毒性学会学術年会、大阪 (2018 年 7 月)
- 52) 山田貴宣、豊田武士、曾根瑞季、鈴木周五、松下幸平、森川朋美、小川久美子. γ -H2AX を指標とした膀胱発がん性の早期予測—追加の化学物質による検証—. 第 45 回日本毒性学会学術年会、大阪 (2018 年 7 月)
- 53) 豊田武士、戸塚ゆ加里、松下幸平、森川朋美、山田貴宣、三好規之、若林敬二、小川久美子. 膀胱がんリスク因子としてのノルハルマン代謝物：ラットを用いた検討. がん予防学術大会 2018 高松、高松 (2018 年 6 月)
- 54) Nomura S, Yasuda T, Yang Q, Toyoda T, Choi E, Uchida E, Seto Y, Goldenring JR. Amelioration of metaplasia and re-emergence of normal gastric lineages after treatment of *H. pylori* infected gerbils with a MEK inhibitor. Digestive Disease Week 2018, Washington (2018 年 6 月)
- 55) 森川朋美、松下幸平、豊田武士、山田貴宣、高橋美和、井上薫、小川久美子. ラットを用いた 2-エチルブタナールの 90 日間亜慢性反復経口投与毒性試験. 日本食品化学学会第 24 回総会・学術大会、東京 (2018 年 5 月)
- 56) 野村幸世、豊田武士、大津洋、石橋祐子、愛甲丞、長田梨比人、市田晃彦、菅原寧彦、國土典弘、瀬戸泰之. 胃癌、膵癌、乳癌早期発見バイオマーカーとしての血清 TFF3 とその起源の解明. 第 118 回日本外科学会定期学術集会、東京 (2018 年 4 月)
- 57) 赤木純一、曹永晩、豊田武士、水田保子、横井雅幸、大森治夫、花岡文雄、小川久美子. ベンゾ[a]ピレン誘発発がんに対する Pol κ の寄与の解析. 日本薬学会第 138 年会、金沢 (2018 年 3 月)
- 58) Toyoda T, Matsushita K, Morikawa T, Yamada T, Miyoshi N, Ogawa K. γ -H2AX formation induced by the bladder-carcinogenic aromatic amines *o*-toluidine and *o*-anisidine in the urinary bladder of rats. 57th Annual Meeting of the Society of Toxicology, San Antonio (2018 年 3 月)
- 59) Cho YM, Akagi J, Mizuta Y, Toyoda T, Ogawa K. Adjuvant effects of transcutaneously exposed cholera toxin and its B sub-unit. 57th Annual Meeting of the Society of Toxicology, San Antonio (2018 年 3 月)
- 60) 豊田武士、松下幸平、曹永晩、赤木純一、曾根瑞季、西川秋佳、小川久美子. γ -H2AX 免疫染色による膀胱発がんリスク早期検出法の開発. 第 34 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、那覇 (2018 年 1 月)
- 61) 曹永晩、水田保子、赤木純一、豊田武士、小川久美子. 経皮曝露感作性試験におけるコレラトキシン及びコレラトキシン B サブユニットのアジュバント作用. 第 34 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、那覇 (2018 年 1 月)
- 62) 山田貴宣、松下幸平、豊田武士、森川朋美、高橋美和、井上薫、小川久美子. ラットを用いたバニリンプロピレングリコールアセタール(バニリンPGA)の 90 日間亜慢性反復経口投与毒性試験. 第 34 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、那覇 (2018 年 1 月)
- 63) 赤木純一、曹永晩、豊田武士、水田保子、横井雅幸、花岡文雄、大森治夫、小川久美子. ベンゾ[a]ピレン混餌投与によるマウス前胃腫瘍発生に対する Pol κ の寄与. 第 40 回日本分子生物学会年会、神戸 (2017 年 12 月)
- 64) Tajima Y, Toyoda T, Matsushita K, Hashidume T, Wakabayashi K, Miyoshi N. Analysis of genotoxic activities of urinary bladder carcinogenic aromatic amines. 12th International Conference on Environmental Mutagens, Incheon (2017 年 11 月)
- 65) 降旗千恵、鈴木孝昌、豊田武士、小川久美子. 次世代シーケンス-Targeted mRNA Sequencing によるトキシコゲノミクス指標遺伝子の検証. 日本環境変異原学会第 46 回大会、東京 (2017 年 11 月)
- 66) 小川久美子、曹永晩、石井雄二、豊田武士. 病理からみた遺伝毒性. 日本環境変異原学会第 46 回大会、東京 (2017 年 11 月)
- 67) 豊田武士、三好規之、小川久美子. *o*-トルイジンおよび *o*-アニシジンはラット膀胱粘膜に γ H2AX 形成を誘導する. 第 76 回日本癌学会学術総会、横浜 (2017 年 9 月)
- 68) 豊田武士、松下幸平、森川朋美、小川久美子. 芳香族アミン投与ラット膀胱粘膜における γ H2AX 発現. 第 44 回日本毒性学会学術年会、横浜 (2017 年 7 月)
- 69) 曹永晩、赤木純一、水田保子、豊田武士、小川久美子. サイズによって異なるナノ銀の急性毒性. 第 44 回日本毒性学会学術年会、横浜 (2017 年 7 月)
- 70) 野村幸世、豊田武士、長田梨比人、市田晃彦、大津洋、石橋祐子、愛甲丞、菅原寧彦、國土典弘、瀬戸泰之. 胃癌、膵癌早期発見バイオマーカーとしての血清 TFF3 の起源とその上昇機序の解明. 第 26 回日本癌病態治療研究会、横浜 (2017 年 6 月)
- 71) 竹島秀幸、丹羽透、豊田武士、山下聡、牛島俊和. 組織におけるエピゲノム傷害の程度は、発がん要因への曝露期間により決まる. 第 11 回日本エピジェネティクス研究会年会、東京 (2017 年 5 月)

G. 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