

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：遺伝子セットを用いた遺伝毒性肝発がん物質短期検出モデルの確立

研究分担者 魏 民 大阪市立大学大学院医学研究科 環境リスク評価学 准教授

## 研究要旨

本研究は化学物質の有害性評価の迅速化・高度化・標準化を可能とする評価モデルの構築を目的とし、遺伝毒性肝発がん物質短期検出モデルの開発および検証を行った。平成29年度から3年間にわたり遺伝毒性肝発がん物質を含めた種々の化学物質23物質についてラット単回投与を行い、投与24時間後の肝臓におけるマーカー遺伝子（10遺伝子）の発現データをqPCRで取得し、我々が構築した遺伝毒性肝発がん物質検出モデルを用いて肝発がん性を予測した。その結果、遺伝毒性肝発がん物質11物質のうち、7物質について陽性判定が得られ、その他の全ての物質（12物質）で陰性判定が得られた。研究班の結果を総合すると、我々が構築した遺伝子セットを用いた予測モデルは遺伝毒性肝発がん物質を、感度82.6%（19/23）及び特異度97.3%（36/37）と、高い精度で検出できる可能性が示唆された。今後、偽陰性物質について最大耐量を用いて再評価するとともに、本試験系の検出限界や改良についての検証を引き続き行う必要がある。

### A. 研究目的

生活環境を取り巻く化学物質の発がん性を迅速に、かつ高精度に検証できるシステムの確立は、社会的にも経済的にも非常に重要であり、システムで得られた結果は国民生活の安全・安心を保障する重要な基盤となる。本研究では化学物質の発がん性評価の迅速化・高精度化・標準化を目的に、平成23年度～28年度「化学物質の安全性と発がん性リスク評価としての短・中期バイオアッセイ系の開発に関する研究」（吉見班）で蓄積してきた病理組織発がんマーカー及び試験法をより一層発展・高精度化し、高精度発がん評価モデルとして確立する。さらに国際的に認知させる必要があるため、それらの発がん性評価法のOECDテストガイドライン化を目指すことが重要である。そこで、本申請研究においては、OECDテストガイドライン化の成立を最終目的として、6研究施設による協同体制にて下記に記す三つの研究を実施する。第一に、膀胱を標的とする発がん物質を用いた28日間反復投与試験を実施し、病理組織発がんマーカーを用いた膀胱発がんリスク評価法を確立する。第二に、これまで開発した遺伝子セットを用いた遺伝毒性肝発がん物質短期検出モデルの有用性をより一層検証し、確立する。第三に、上記の試料を用いてDNA付加体を網羅的に解析しカタログ化する方法（アダクトーム解析）による化学物質のDNA損傷を指標とした遺伝毒性評価法を開発する。

平成29年度から令和元年まで、我々が構築した遺伝子セットを用いた遺伝毒性肝発がん物質短期検出モデルを確立するために、11種類の遺伝毒性肝発がん物質及び12種類のそれ以外の物質（非遺伝毒性ラット肝発がん物質、遺伝毒性非ラット肝発がん物質及び非遺伝毒性非発がん物質）について、ラット単回投与試験を行い、得られた遺伝子発現データを予測モデルに入力し、判

定を行った。

### B. 研究方法

遺伝毒性肝発がん物質を含めた種々の化学物質合計23種類について、ラット単回強制胃内投与試験を行った。遺伝子発現については、リアルタイムPCRにてデータを取得した。リアルタイムRT-PCRは施設共通のプロトコールに従って行った。肝臓からのtotal RNA抽出とcDNAの合成はそれぞれRNeasy mini kit（キアゲン）とSuper Script VI VIL0 Master Mix（Invitrogen）のキットを使用した。

得られた遺伝子発現データを我々が構築した遺伝毒性肝発がん物質検出モデル（サポートベクターマシンによる数値的アルゴリズムによるモデル）に入力し、陽性または陰性の判定を行った。

（倫理面への配慮）

大阪市立大学動物実験委員会から動物実験の許可を得、動物実験指針を遵守して行い、動物愛護に十分に配慮した。

### C. 研究結果

取得した遺伝子発現データを構築済の遺伝毒性肝発がん物質検出モデルに入力し、遺伝毒性肝発がん性の陽性または陰性の判定を行った。本モデルでは、遺伝毒性肝発がん物質を「陽性」、その他の物質（非遺伝毒性肝発がん物質、肝以外の発がん物質、非発がん物質）を「陰性」と判定する。その結果、遺伝毒性肝発がん物質の11物質のうち、7物質について陽性判定が得られ（表1）、その他の全ての物質（12物質）で陰性判定が得られた（表2）。

表1. 遺伝毒性肝発がん物質の判定結果

被検物質	判定結果	正否
2-Nitropropane (2-NP)	Positive	○
o-Aminoazotoluene (AAT)	Positive	○
N-Nitrosodimethylamine (DMN)	Positive	○
4,4'-Thiodianiline (TDA)	Positive	○
Benzidine (BZ)	Negative	×
Hydrazine (HZ)	Negative	×
4,4'-Oxydianiline (4,4'-ODA)	Negative	×
Vinyl bromide (VB)	Negative	×
Dichloroacetic acid (DCA)	Positive	○
Hydrazine sulfate (HS)	Positive	○
Acid Red 26 (AR-26)	Positive	○

表 2. その他の物質の判定結果

被検物質	判定結果	正否
Ames(-)/肝発がん性(+)		
Hexachlorobenzene (HCB)	Negative	○
Carbon tetrachloride (CCL4)	Negative	○
Gemfibrozil (GFZ)	Negative	○
Ethinylestradiol (EE)	Negative	○
Ames(+)/発がん性(-)		
Isoniazid (INH)	Negative	○
Ames(-)/発がん性(-)		
Diazepam (DZP)	Negative	○
Disulfiram (DSF)	Negative	○
Phenytol (PHE)	Negative	○
Rotenone (ROT)	Negative	○
Tolbutamide (TLB)	Negative	○
Aspirin (ASA)	Negative	○
Triamterene (TRI)	Negative	○

#### D. 考察

非遺伝毒性ラット肝発がん物質、遺伝毒性非ラット肝発がん物質及び非遺伝性非発がん物質の合計 12 物質はすべて陰性と判定されたことから、本モデルは遺伝毒性肝発がん物質を高い特異度で検出できる可能性が示唆された。一方で、遺伝毒性肝発がん物質 11 物質のうち、4 物質が偽陰性となった。今後、検出精度を上げるには偽陰性物質について最大用量を用いて再評価する必要があると考えられる。

#### E. 結論

我々が構築した遺伝子セットを用いた肝発がん性予測モデルは遺伝毒性肝発がん物質を高い特異度で検出できるが、偽陰性になる物質がある。今後も本試験系の検出限界や改良についての検証を引き続き行う必要がある。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Fujioka M, Suzuki S, Gi M, Kakehashi A, Oishi Y, Okuno T, Yukimatsu N, Wanibuchi H: Dimethylarsinic acid (DMA) enhanced lung carcinogenesis via histone H3K9 modification in a transplacental mouse model. Arch Toxicol. 2020; 94: 927-37.

- 2) Yukimatsu N, Gi M, Okuno T, Fujioka M, Suzuki S, Kakehashi A, Yanagiba Y, Suda M, Koda S, Nakatani T, Wanibuchi H. Promotion effects of acetoaceto-o-toluidide on N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine-induced bladder carcinogenesis in rats. Arch Toxicol. 2019; 93: 3617-3631.
- 3) Yoshida K, Gi M, Fujioka M, Teramoto I, Wanibuchi H. Long-term administration of excess zinc impairs learning and memory in aged mice. J Toxicol Sci. 2019; 44: 681-691.
- 4) Yamaguchi T, Gi M, Fujioka M, Tago Y, Kakehashi A, Wanibuchi H. A chronic toxicity study of diphenylarsinic acid in the drinking water of C57BL/6J mice for 52 weeks. J Toxicol Pathol. 2019; 32: 127-134.
- 5) Okuno T, Gi M, Fujioka M, Yukimatsu N, Kakehashi A, Takeuchi A, Endo G, Endo Y, Wanibuchi H. Acetoaceto-o-Toluidide Enhances Cellular Proliferative Activity in the Urinary Bladder of Rats. Toxicol Sci. 2019; 169: 456-464.
- 6) Gi M, Fujioka M, Totsuka Y, Matsumoto M, Masumura K, Kakehashi A, Yamaguchi T, Fukushima S, Wanibuchi H. Quantitative analysis of mutagenicity and carcinogenicity of 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline in F344 gpt delta transgenic rats. Mutagenesis. 2019; 34: 279-287.
- 7) Okuno T, Kakehashi A, Ishii N, Fujioka M, Gi M, Wanibuchi H. mTOR Activation in Liver Tumors Is Associated with Metabolic Syndrome and Non-Alcoholic Steatohepatitis in Both Mouse Models and Humans. Cancers (Basel). 2018; 10: 465.
- 8) Gi M, Fujioka M, Yamano S, Kakehashi A, Oishi Y, Okuno T, Yukimatsu N, Yamaguchi T, Tago Y, Kitano M, Hayashi SM, Wanibuchi H. Chronic dietary toxicity and carcinogenicity studies of dammar resin in F344 rats. Arch Toxicol. 2018; 92: 3565-83.
- 9) Gi M, Fujioka M, Kakehashi A, Okuno T, Masumura K, Nohmi T, Matsumoto M, Omori M, Wanibuchi H, Fukushima S. In vivo positive mutagenicity of 1,4-dioxane and quantitative analysis of its mutagenicity and carcinogenicity in rats. Arch Toxicol. 2018; 92: 3207-21.
- 10) Fukushima S, Gi M, Fujioka M, Kakehashi A, Wanibuchi H, Matsumoto M. Quantitative Approaches to Assess Key Carcinogenic Events of Genotoxic Carcinogens. Toxicol Res. 2018; 34: 291-6.
- 11) Shimizu Y, Tamada S, Kato M, Takeyama Y, Fujioka M, Kakehashi A, Nakatani T, Wanibuchi

- H, Gi M. Steroid sulfatase promotes invasion through epithelial-mesenchymal transition and predicts the progression of bladder cancer. *Exp Ther Med*. 2018; 16: 4463-70.
- 12) Tachibana H, Gi M, Kato M, Yamano S, Fujioka M, Kakehashi A, Hirayama Y, Koyama Y, Tamada S, Nakatani T, Wanibuchi H. Carbonic anhydrase 2 is a novel invasion-associated factor in urinary bladder cancers. *Cancer Sci*, 2017; 108, 331-337.
  - 13) Yamaguchi T, Gi M, Yamano S, Fujioka M, Tatsumi K, Kawachi S, Ishii N, Doi K, Kakehashi A, Wanibuchi H. A chronic toxicity study of diphenylarsinic acid in F344 rats in drinking water for 52 weeks. *Exp Toxicol Pathol*. 2017; 69, 1-7.
  - 14) Ishii N, Gi M, Fujioka M, Yamano S, Okumura M, Kakehashi A, Wanibuchi H. Diphenylarsinic acid exerts promotion effects on hepatobiliary carcinogenesis in a rat medium-term multiorgan carcinogenicity bioassay. *J Toxicol Pathol*. 2017; 30, 39-45.
  - 15) Doi K, Fujioka M, Sokuza Y, Ohnishi M, Gi M, Takeshita M, Kumada K, Kakehashi A, Wanibuchi H. Chemopreventive Action by Ethanol-extracted Brazilian Green Propolis on Post-initiation Phase of Inflammation-associated Rat Colon Tumorigenesis. *In Vivo*. 31, 2017; 187-197.
  - 16) Yamaguchi T, Gi M, Fujioka M, Doi K, Okuno T, Kakehashi A, Wanibuchi H. A carcinogenicity study of diphenylarsinic acid in F344 rats in drinking water for 104 weeks. *J Toxicol Sci*. 2017; 42, 475-483.
  - 17) Kakehashi A, Ishii N, Okuno T, Fujioka M, Gi M, Fukushima S, Wanibuchi H. Progression of Hepatic Adenoma to Carcinoma in *Ogg1* Mutant Mice Induced by Phenobarbital. *Oxid Med Cell Longev*. 2017; 8541064.
  - 18) Kakehashi A, Ishii N, Okuno T, Fujioka M, Gi M, Wanibuchi H. Enhanced Susceptibility of *Ogg1* Mutant Mice to Multiorgan Carcinogenesis. *Int J Mol Sci*. 18, 2017; pii: E1801.
2. 学会発表
- 1) 魏民、梯アンナ、鈴木周五、梯アンナ、山口貴嗣、鰐淵英機. ジフェニルアルシン酸のマウス経胎盤ばく露による肝発がん作用. 第 36 回日本毒性病理学会総会、東京 (2020 年 2 月)
  - 2) 梯アンナ、石井直美、魏民、鈴木周五、鰐淵英機. NASH 肝臓発がんにおける新規マーカー候補分子の同定. 第 36 回日本毒性病理学会総会、東京 (2020 年 2 月)
  - 3) 行松直、魏民、梯アンナ、鈴木周五、鰐淵英機. ラットにおける BBN 誘発膀胱発がんに対する *o*-Acetoacetotoluidide の促進効果. 第 36 回日本毒性病理学会総会、東京 (2020 年 2 月)
  - 4) 魏民、鰐淵英機. 機能性食品の安全性評価. 日本食品化学学会第 35 回食品化学シンポジウム、東京都 (2019 年 11 月)
  - 5) Gi M. Novel *in vivo* Bioassays for Prediction of Chemical Carcinogenicity, The 3th Chinese Pharmaceutical Association-Society of Toxicologic pathology (CPA-STP) Meeting, Shu Zhou, China (2019 年 11 月)
  - 6) 鰐淵英機、魏民、梯アンナ、鈴木周五. ジフェニルアルシン酸の長期毒性及びその発現機序—動物試験から得られた知見—. 第 23 回ヒ素シンポジウム、群馬県、(2019 年 11 月)
  - 7) 梯アンナ、石井直美、奥野高裕、魏民、鰐淵英機. 非アルコール性脂肪肝炎の肝臓癌におけるアルギニン及び糖代謝産物の蓄積. 第 78 回日本癌学会学術総会、京都 (2019 年 9 月)
  - 8) 鰐淵英機、魏民. 芳香族アミンによる職業性膀胱がんに関する最新知見. 第 78 回日本癌学会学術総会、京都 (2019 年 9 月)
  - 9) 魏民、藤岡正喜、大石裕司、鈴木周五、梯アンナ、山口貴嗣、鰐淵英機. ジフェニルアルシン酸の胎仔期ばく露におけるマウス肝発がん性の検討. 第 78 回日本癌学会学術総会、京都 (2019 年 9 月)
  - 10) 行松直、奥野高裕、魏民、梯アンナ、鰐淵英機. ラットにおける BBN 誘発膀胱発がんに対するアセトアセト-*o*-トルイジドの促進効果. 第 78 回日本癌学会学術総会、京都 (2019 年 9 月)
  - 11) 鈴木周五、加藤寛之、内木綾、魏民、梯アンナ、高橋智、鰐淵英機. Nicotine の膀胱発がん促進効果とその機序. 第 34 回発癌病理研究会、三重 (2019 年 8 月)
  - 12) 鰐淵英機、魏民. *In vivo* 発がん物質短・中期検出法の開発. 第 46 回日本毒性学会学術年会、徳島 (2019 年 6 月)
  - 13) 奥野高裕、魏民、梯アンナ、末水洋志、秦順一、鰐淵英機. アフラトキシン B1 はキメラ化したヒト化 TK-NOG マウスのヒト肝領域を特異的に障害する. 第 46 回日本毒性学会学術年会、徳島 (2019 年 6 月)
  - 14) 奥野高裕、魏民、藤岡正喜、梯アンナ、鰐淵英機. Acetoacetotoluidide はラット膀胱上皮の細胞増殖を促進し、発がん促進作用を示す. 第 108 回日本病理学会総会、東京 (2019 年 5 月)
  - 15) 魏民、藤岡正喜、行松直、奥野高裕、山口貴嗣、梯アンナ、鰐淵英機. BBN 誘発マウス膀胱がんモデルにおける Acetazolamide の予防効果の検討. 第 35 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、東京都 (2019 年 2 月)
  - 16) 梯アンナ、石井直美、奥野高裕、多胡善幸、藤岡正喜、魏民、鰐淵英機. NASH モデル TSOD マウスにおける肝臓腫瘍および肝臓組織のメタボローム解析. 第 35 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、東京都 (2019 年 2 月)
  - 17) 藤岡正喜、魏民、奥野高裕、行松直、梯アンナ、大石裕司、鰐淵英機. 有機ヒ素化合物 Dimethylarsinic acid の経胎盤ばく露によるマウ

- ス肺発がん過程におけるヒストン修飾異常. 第 35 回日本毒性病理学会総会及び学術集会, 東京都 (2019 年 2 月)
- 18) 奥野高裕、行松直、魏民、藤岡正喜、梯アンナ、鰐渕英機. 職業性膀胱癌に関わるヒト膀胱癌の特徴と実験病理学的解析. 第 18 回分子予防環境医学研究会大会, 愛知県 (2019 年 1 月)
- 19) 行松直、奥野高裕、魏民、藤岡正喜、梯アンナ、鰐渕英機. o-Acetoacetotoluidide による膀胱に対する毒性、発がんプロモーション作用の検討. 第 35 回日本毒性病理学会総会及び学術集会, 東京都 (2019 年 1 月)
- 20) 山口貴嗣、魏民、藤岡正喜、梯アンナ、鰐渕英機. ジフェニルアルシン酸の F344 ラットにおける慢性毒性試験及び発がん性試験. 第 35 回日本毒性病理学会総会及び学術集会, 東京都 (2019 年 1 月)
- 21) 藤岡正喜、魏民、奥野高裕、行松直、大石裕司、梯アンナ、鰐渕英機. マウス経胎盤ばく露による有機ヒ素化合物 Dimethylarsinic acid の発がん性およびその機序. 日本毒性学会生体金属部会主催メタルバイオサイエンス研究会 2018、宮城 (2018 年 11 月)
- 22) 藤岡正喜、魏民、奥野高裕、行松直、大石裕司、梯アンナ、鰐渕英機. 有機ヒ素化合物 Dimethylarsinic acid のマウス経胎盤ばく露による発がん機序の検討. 第 77 回日本癌学会学術総会、大阪 (2018 年 9 月)
- 23) 奥野高裕、行松直、藤岡正喜、梯アンナ、魏民、鰐渕英機. Acetoaceto-o-toluidide はラット膀胱上皮細胞の増殖と DNA 傷害を誘発する. 第 77 回日本癌学会学術総会、大阪 (2018 年 9 月)
- 24) 梯アンナ、石井真美、奥野高裕、藤岡正喜、多胡善幸、魏民、鰐渕英機. メタボリックシンドロームモデル TSOD マウスにおける NASH 肝臓組織及び腫瘍のメタボローム解析. 第 77 回日本癌学会学術総会、大阪 (2018 年 9 月)
- 25) 魏民、藤岡正喜、奥野高裕、行松直、山口貴嗣、梯アンナ、鰐渕英機. ラットにおける 1,4-dioxane の変異原性と発がん性の定量的解析. 第 77 回日本癌学会学術総会、大阪 (2018 年 9 月)
- 26) 鰐渕英機、魏民、藤岡正喜、梯アンナ、奥野高裕. 環境化学物質による発がん細胞傷害・修復の破綻. 第 107 回日本病理学会総会、北海道 (2018 年 6 月) (ワークショップ)
- 27) 梯アンナ、石井真美、奥野高裕、魏民、鰐渕英機. 非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) の肝細胞と肝がんにおけるプロテオーム解析. 第 107 回日本病理学会総会、北海道 (2018 年 6 月)
- 28) 奥野高裕、石井真美、梯アンナ、魏民、鰐渕英機. NASH 由来の肝細胞癌における mTOR の活性化. 第 107 回日本病理学会総会、北海道 (2018 年 6 月)
- 29) 魏民、藤岡正喜、梯アンナ、奥野高裕、鰐渕英機. 職業性胆管がんにおける疫学的および動物モデルでの知見. 第 25 回日本がん予防学会学術総会、香川 (2018 年 6 月)
- 30) 行松直、奥野高裕、魏民、藤岡正喜、梯アンナ、鰐渕英機. o-Acetoacetotoluidide による膀胱に対する毒性の検討. 第 33 回発癌病理研究会、静岡 (2018 年 8 月)
- 31) 熊田賢次、藤岡正喜、魏民、大石裕司、奥野高裕、梯アンナ、鰐渕英機. マウス経胎盤ばく露による有機ヒ素化合物 Dimethylarsinic acid の発がん性およびその機序. 第 17 回分子予防環境医学研究会、三重 (2018 年 2 月)
- 32) 魏民、藤岡正喜、梯アンナ、鰐渕英機. 遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法の開発. 第 34 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、沖縄 (2018 年 1 月)
- 33) 奥野高裕、石井真美、梯アンナ、藤岡正喜、魏民、鰐渕英機. 2 つの NASH モデルマウスにおける病理組織学的所見の違い. 第 34 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、沖縄 (2018 年 1 月)
- 34) 藤岡正喜、魏民、奥野高裕、熊田賢次、梯アンナ、大石裕司、鰐渕英機. マウス経胎盤ばく露による有機ヒ素化合物 Dimethylarsinic acid の発がん性およびその機序. 第 34 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、沖縄 (2018 年 1 月)
- 35) 梯アンナ、奥野高裕、藤岡正喜、魏民、鰐渕英機. NASH の肝臓組織や肝臓癌におけるプロテオーム解析. 第 34 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、沖縄 (2018 年 1 月)
- 36) 熊田賢次、奥野高裕、魏民、藤岡正喜、行松直、梯アンナ、鰐渕英機. O-Acetoacetoluidide (AAOT) の毒性影響の検討. 第 34 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、沖縄 (2018 年 1 月)
- 37) 藤岡正喜、魏民、奥野高裕、熊田賢次、梯アンナ、大石裕司、鰐渕英機. マウス経胎盤ばく露による有機ヒ素化合物 Dimethylarsinic acid の発がん性およびその機序. 第 23 回ヒ素シンポジウム、茨城 (2017 年 12 月)
- 38) 香山侑弘、魏民、藤岡正喜、熊田賢次、奥野高裕、梯アンナ、鰐渕英機. BBN 誘発マウス膀胱がんにおける Ink4a/Arf の役割の検討. 第 76 回日本癌学会学術総会、神奈川 (2017 年 9 月)
- 39) 魏民、藤岡正喜、梯アンナ、奥野高裕、香山侑弘、熊田賢次、鰐渕英機. BBN 誘発マウス膀胱発がんモデルにおける Acetazolamide の抑制効果の検討. 第 76 回日本癌学会学術総会、神奈川 (2017 年 9 月)
- 40) 藤岡正喜、魏民、熊田賢次、奥野高裕、梯アンナ、鰐渕英機. CD1 マウスにおけるジメチルアルシン酸 (DMA) の胎児期ばく露による発がん性. 第 76 回日本癌学会学術総会、神奈川 (2017 年 9 月)
- 41) 梯アンナ、石井真美、藤岡正喜、魏民、鰐渕英機. 非アルコール性脂肪肝炎の肝臓組織や肝臓癌におけるプロテオーム解析. 第 76 回日本癌学会学術総会、神奈川 (2017 年 9 月)
- 42) 奥野高裕、梯アンナ、石井真美、藤岡正喜、魏民、鰐渕英機. NASH モデルマウスを用いた肝細

胞癌の発がんメカニズム解析. 第 32 回発癌病理研究会、滋賀 (2017 年 8 月)

- 43) 鰐渕英機、魏民、藤岡正喜、梯アンナ. ヒ素の発がんリスク評価. 第 44 回日本毒性学会学術年会、神奈川 (2017 年 7 月)
- 44) 藤岡正喜、魏民、河内聡子、梯アンナ、鰐渕英機. 1,2-ジクロロプロパンおよびジクロロメタン複合曝露によるマウス肝臓への影響. 第 44 回日本毒性学会学術年会、神奈川 (2017 年 7 月)

## G. 知的所有権の取得状況

### 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