

生体影響予測を基盤としたナノマテリアルの統合的健康影響評価方法の提案  
分担研究課題名：生体を模倣した *in vitro* 試験系を用いた遺伝毒性評価

研究分担者：戸塚 ゆ加里 国立がん研究センター研究所 発がんモデル開発部門 ユニット長

**研究要旨：** 先行研究により、ナノマテリアルの遺伝毒性メカニズムに基づいた *in vitro* 毒性評価システム確立の検討を行っており、肺毒性試験系として、マウス肺より樹立した細胞株 (GDL1細胞) とマクロファージ (RAW264.7) を用い、共培養システムの構築を行ない、多層カーボンナノチューブやMGTを用いて、本システムの妥当性の検証を行ってきた。今年度は、この手法を用いて酸化チタンナノ粒子の形状や粒径などの物理化学的な性質が毒性に及ぼす影響を明らかにすることを目的に、5種の酸化チタンナノ粒子 (JRCNM01001a, JRCNM1005a, MT-150A, AMT-100, TKP-102) を用いて検討した。まず、細胞毒性について調べた結果、RAW264及びGDL1に対して、いずれの酸化チタンナノ粒子も用量依存的に細胞生存率を低下させることがわかった。また、細胞毒性の程度はGDL1に比べRAW264で顕著であることがわかった。これはRAW264がマクロファージ様細胞であるため、酸化チタンを貪食した後、分解できずに細胞破裂が起こったと考えられた。さらに、RAW264.7とGDL1のどちらの細胞でもアナターゼとルチルでの結晶の違いでの差は見られなかった。次にAMT-100とTKP-102暴露における *gpt* 遺伝子を標的とした変異原性試験を実施した。いずれも酸化チタンナノ粒子の用量非依存的であり、共培養よりも単培養で変異頻度が高い傾向が観察された。この結果は先行研究のナノマグネタイトや多層カーボンナノチューブの結果とは異なる結果となったが、各サンプルのタイターからも、解析が不十分であることが考えられるため、最終的な評価には更なる検討が必要であると思われる。 *In vitro* 変異原性試験においてAMT-100の方がTKP-102より変異頻度が上昇する傾向が観察された。AMT-100は一次粒子径が6 nmで比表面積が280 m<sup>2</sup>/gに対しTKP-102はAMTより大きく一次粒子径が15 nmで比表面積が110 m<sup>2</sup>/gである。一般的には一次粒子径が小さく、比表面積が大きいほど細胞や組織に取り込まれやすく、毒性が現れることから、AMT-100の方が変異が起きやすいという結果になったと考えられた。今後、酸化チタンナノ粒子の形状や粒径などの物理化学的な性質が遺伝毒性に及ぼす影響についてさらに詳細に明らかにするために、その他の酸化チタンナノ粒子 (JRCNM01001a, JRCNM1005a, MT-150A,) の *gpt* 遺伝子に対する変異原性についても解析することが必要だと思われる。

## A. 研究目的

既存の *in vitro* 遺伝毒性試験としては、Ames 試験 (変異原性試験)、コメットアッセイ (DNA 損傷試験)、小核試験 (染色体異常試験) などが簡便な試験法として汎用されている。しかしながら、これらの *in vitro* 試験のみでは微粒子などの化学物質の遺伝毒性評価は難しく、別の視点から遺伝毒性を評価する試験法を更に追加することが必要であると考え。これまで我々は、LC-MS/MS により DNA 付加体を網羅的に解析する方法 (アダクトーム法) を用い、DNA 損傷のより詳細な評価を行ない、化学物質の *in vitro* 安全性評価法として妥当かどうかについて確かめてきた。

一方、ナノマテリアルの気道毒性の *in vitro* リスク評価は主として肺胞上皮由来細胞を単独で用いた系で為されているが、当該毒性の発現機構には肺胞マクロファージによる貪食と液性因子放出が関与することが示唆されている。そこで、我々は、生体を模倣した新規 *in vitro* 試験系の構築が必要であると考え、マクロファージ様細胞と肺由来の細胞の共培養系を利用して、新しい *in vitro* 気道毒性試験系を開発し、その妥当性を多層カーボンナノ

チューブやマグネタイトナノ粒子 (MGT) を用いて検証してきた。また、毒性の低減化も考慮して表面修飾の有無などの物理化学的性質が遺伝毒性に対する影響について、ポリアクリル酸修飾を施した MGT (BMSC-5) と修飾を施していない MGT (BMS-10) を使用して検討したところ、表面修飾を有する BMSC-5 は表面修飾を有さない BMS-10 に比べ、細胞毒性や変異原性が強いことがわかった。今年度は、本手法を用いて各種酸化チタンナノ粒子の遺伝毒性評価を行う予定であり、現在、マテリアルの細胞毒性の検討を行っている。

## B. 研究方法

### ① 酸化チタンナノ粒子の細胞毒性

まず、被験物質の調整を行なった。本試験で用いた酸化チタンは、JRCNM01001a, JRCNM1005a, MT-150A, AMT-100, TKP-102 である。このうち、JRCNM01001a, JRCNM1005a は EU の Joint Research Center (Ispra, Italy) より、MT-150A, AMT-100, TKP-102 は本研究班の大野先生より供給いただいた。これらマテリアルは DMEM+10% FBS+1% penicillin/streptomycin 基本培地に懸濁して超音波

処理を行い以下の試験に供した。先行研究では、細胞毒性試験にニュートラルレッド(NR)を用いていたが、ナノ材料が凝集した際に NR がナノ物質の凝集塊に吸着してしまうなどの問題点があった。酸化チタンナノ粒子は特に凝集しやすいことから、トリパンプルーの取り込みを指標に細胞毒性試験を行うこととし、その条件検討から開始した。実験に供した細胞は、*gpt delta* マウスより樹立された GDL1、マクロファージ様細胞の RAW264 の 2 種類。6well plate に RAW264 及び GDL1 を  $1 \times 10^6$  cell/well 及び  $5 \times 10^5$  cell/well で播種し、24 時間培養した。その後、各細胞に 5 種の酸化チタンナノ粒子を RAW264 に 125, 250, 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、GDL1 には 250, 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  を各 well に添加し、24 時間曝露後にトリパンプルーを用いて細胞生存率を測定した。

## ② 共培養システムによる遺伝毒性試験法

GDL1 細胞を播種した後、ThinCert™ (pore size; 0.4  $\mu\text{m}$ , high density: greiner bio-one) を各 well に入れ、インサート内に RAW264 を播種し、24 時間培養した。各種酸化チタンナノ粒子を RAW264 のみ、または RAW 264 と GDL1 の両方に 24 時間曝露させた後にトリプシン処理により GDL1 を回収し、一定期間培養した後に細胞から DNA を抽出し、*in vitro* パッケージングによってトランスジーン  $\lambda$  EG10 をファージ粒子として回収した。回収したファージを Cre 組換え酵素発現している大腸菌 YG6020 株に感染させると、 $\lambda$  EG10 上にある一組の loxP 配列に挟まれた領域が Cre 組換え酵素によって切り出され、プラスミドに転換する。感染後の YG6020 菌液を 6-thioguanin (6-TG) と chloramphenicol (Cm) を含む M9 寒天培地に播いて 37°C で培養すると、プラスミド上の *gpt* 遺伝子が不活化している変異体のみが、6-TG を含む寒天培地上でコロニーを形成する。また、Cm を含む M9 寒天培地に播いて生じたコロニー数から、感染ファージ由来のプラスミドによる形質転換効率を求め、変異コロニー数を形質転換コロニー数で除去して突然変異頻度を算出した。

(倫理面への配慮)

本研究では該当しない。

## C. 研究結果

### ① 酸化チタンナノ粒子の細胞毒性

酸化チタンナノ粒子による細胞毒性を調べるために、トリパンプルー試薬を用いた。この方法は、生細胞はトリパンプルーを取り込まないが死細胞はその色素を取り込み青色に染色される、という原理に基づいている。実験に供した細胞は、

*gpt delta* マウスより樹立された GDL1、マクロファージ様細胞の RAW264 の 2 種類。6well plate に RAW264 及び GDL1 を  $1 \times 10^6$  cell/well 及び  $5 \times 10^5$  cell/well で播種し、24 時間培養した。その後、各細胞に 5 種の酸化チタンナノ粒子 (JRCNM01001a, JRCNM1005a, MT-150A, AMT-100, TKP-102) を RAW264 に 125, 250, 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、GDL1 には 250, 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  を各 well に添加し、24 時間曝露後にトリパンプルーを用いて細胞生存率を測定した。本実験は各サンプル毎に 3 回測定を行い、平均と標準偏差を求めた。

RAW264.7 ではどの酸化チタンナノ粒子でも濃度依存的に細胞生存率減少が見られた (図 1)。コントロールと比べ、TKP-102、JRCNM01001a では有意な差が見られたが MT-150A では 250  $\mu\text{g}/\text{mL}$  のみで有意な差が見られ、AMT-100 では 250, 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の濃度で、JRCNM01005a では 125, 250  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の場合に有意な差が見られた。

各種酸化チタンナノ粒子間では MT-150A と TKP-102 では 250, 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の場合、MT-150A と JRCNM01001a では 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の場合に有意な差が見られた。AMT-100 と TKP-102 では 250  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の場合、AMT-100 と JRCNM01001a では 250  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の場合に有意な差が見られた。TKP-102 と JRCNM01001a, JRCNM01005a では 250, 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の場合に有意な差が見られた。

GDL1 では今回使用した全ての酸化チタンナノ粒子でコントロールと比べ、濃度依存的に細胞数が優位的に減少した (図 2)。各種酸化チタンナノ粒子間では AMT-100 と TKP-102、JRCNM01001a、JRCNM01005a では 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の場合に有意な差が見られた。TKP-102 と JRCNM01005a では 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の場合に有意な差が見られた。

RAW264.7 と GDL1 のどちらの細胞でもアナターゼ とルチルでの結晶の違いでの差は見られなかった。

以上の結果から、RAW264 及び GDL1 に対して、いずれの酸化チタンナノ粒子も用量依存的に細胞生存率を低下させることがわかった。また、細胞毒性の程度は GDL1 に比べ RAW264 で顕著であることがわかった。この結果から、遺伝毒性試験における各種酸化チタンナノ粒子の用量としては、125, 250  $\mu\text{g}/\text{mL}$  で行うことに決定した。

### ② 共培養システムによる遺伝毒性試験法

GDL1 単独および共培養条件下の RAW 細胞または RAW 及び GDL1 の両細胞に 5 種の酸化チタンナノ粒子 (JRCNM01001a, JRCNM1005a, MT-150A, AMT-100, TKP-102) を 125, 250  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の用量で 24 時間曝露した。曝露後、培地交換により酸化チタンナノ粒子を取り除き、更に 6~7 日間培養した。それら GDL1 細胞から DNA を抽出した。

まずは AMT-100 と TKP-102 暴露における *gpt* 遺伝子を標的とした変異原性試験を実施した。変異頻度(MF)を算出した結果を表 1 に示す。

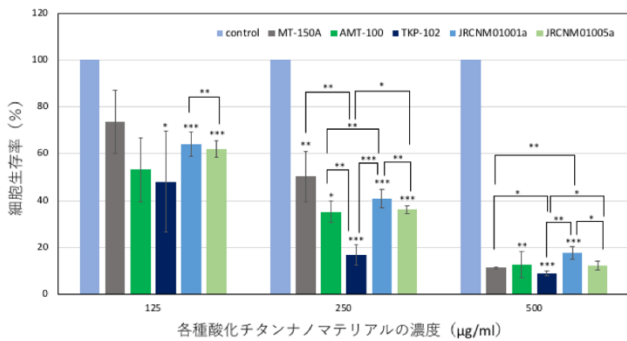


図1. 各種酸化チタンナノ粒子のRAW264に対する細胞毒性

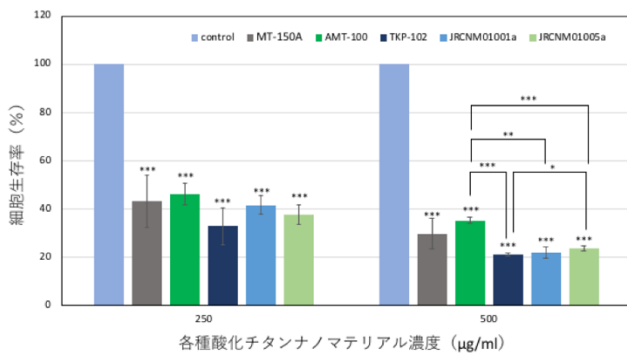


図2. 各種酸化チタンナノ粒子のGDL1に対する細胞毒性

表 1. 酸化チタンナノ粒子を曝露した変異頻度(MF)の結果

Treatment	sample	Number of colonies		MF( $\times 10^{-5}$ )	Average MF( $\times 10^{-5}$ )
		Mutant	Total		
control	1	5	280500	1.78	-
	2	3	205500	1.46	-
	3	5	370500	1.35	-
	-	-	-	-	1.53 $\pm$ 0.23
AMT-100 125 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 単培養	1	6	31500	19.05	-
	2	0	15000	19.05	-
	3	0	22500	0.00	-
	-	-	-	-	12.70 $\pm$ 11.00
AMT-100 250 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 単培養	1	5	243000	2.06	-
	2	12	526500	2.28	-
	3	18	435000	4.01	-
	-	-	-	-	2.13 $\pm$ 1.14
AMT-100 125 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 共培養	1	2	40500	4.94	-
	2	3	100500	2.99	-
	3	3	21000	14.29	-
	-	-	-	-	7.40 $\pm$ 6.04
AMT-100 250( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 共培養	1	8	123000	6.5	-
	2	7	459000	1.52	-
	3	3	199500	1.5	-
	-	-	-	-	3.19 $\pm$ 2.88
TKP-102 125 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 単培養	1	0	16500	0.00	-
	2	5	40500	12.35	-
	3	2	24000	8.33	-
	-	-	-	-	6.89 $\pm$ 6.30
TKP-102 250 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 単培養	1	13	658500	1.97	-
	2	11	282000	3.90	-
	3	13	217500	5.98	-
	-	-	-	-	3.95 $\pm$ 2.00
TKP-102 125 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 共培養	1	3	271500	1.11	-
	2	2	64500	3.1	-
	3	8	252000	3.18	-
	-	-	-	-	2.46 $\pm$ 1.17
TKP-102 250( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 共培養	1	5	228000	2.19	-
	2	6	555000	1.08	-
	3	22	579000	2.93	-
	-	-	-	-	2.01 $\pm$ 0.93

*gpt* mutation assay を行なった結果をグラフにまとめた (図 3)。タイターが十分稼げていない結果も

あり、Preliminary なデータではあるが AMT-100 と TKP-102 のどちらの酸化チタンナノ粒子でも共培養した時より単培養した時の方が変異頻度の増加が見られた。しかし、AMT-100 の 250  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の単培養と共培養では共培養した時の方が変異頻度の増加が見られた。

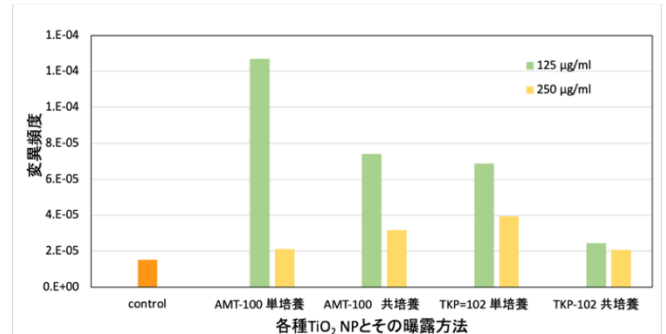


図 3. 酸化チタンナノ粒子の *gpt* 変異結果

#### D. 考察

まず、曝露濃度を検討するために、各種酸化チタンナノ粒子を RAW264.7 及び GDL1 に 24 時間曝露し、細胞生存率をトリパンブルーを用いて測定した。その結果 RAW264 と GDL1 のどちらの細胞でも濃度依存的に減少した。また、RAW264 は GDL1 より酸化チタンの影響が大きいことが分かった。これは RAW264 がマクロファージ様細胞であるため、酸化チタンを貪食した後、分解できずに細胞破裂が起こったと考えられた。また、以降の実験は 125、250  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の曝露濃度で行なった。

次に、*gpt* 遺伝子に対する変異原性の結果、いずれも酸化チタンナノ粒子の用量非依存的であり、共培養よりも単培養で変異頻度が高い傾向が観察された。この結果は先行研究のナノマグネタイトや多層カーボンナノチューブの結果とは異なる結果となった。多層カーボンナノチューブの場合では、マクロファージ様細胞である RAW264.7 細胞が MWCNT を貪食した後、IL-1 $\beta$  や TNF- $\alpha$  が炎症性遺伝子の誘導を行い、さらに一酸化窒素が誘導され、ROS が誘導されることで酸化ストレスにより GDL1 に 8-oxo-dG が形成され変異が誘発されたと考えられている。今回行なった実験で共培養よりも単培養での曝露の方が変異頻度が上昇したのはマクロファージ様細胞である RAW264.7 からの炎症性サイトカインまたは ROS の分泌が GDL1 への変異原性を上昇させるレベルではなかったか、あるいは酸化チタンナノ粒子自身が GDL1 に対して直接的な変異原性を十分に持つ可能性が考えられた。しかしながら、各サンプルのタイターからも、解析が不十分であることが考えられるため、最終的な評価には更なる検討が必要であると思わ

れる。*In vitro* 変異原性試験において AMT-100 の方が TKP-102 より変異頻度が上昇した。AMT-100 は一次粒子径が 6 nm で比表面積が 280 m<sup>2</sup>/g に対し TKP-102 は AMT より大きく一次粒子径が 15 nm で比表面積が 110 m<sup>2</sup>/g である。一般的には一次粒子径が小さく、比表面積が大きいほど細胞や組織に取り込まれやすく、毒性が現れることから、AMT-100 の方が変異が起きやすいという結果になったと考えられた。

今後、その他の酸化チタンナノ粒子 (JRCNM01001a, JRCNM1005a, MT-150A) の *gpt* 遺伝子に対する変異原性を調べることで、酸化チタンナノ粒子の形状や粒径などの物理化学的な性質が遺伝毒性に及ぼす影響についてさらに詳細に明らかになると思われる。

#### D. 考察

まず、曝露濃度を検討するために、各種酸化チタンナノ粒子を RAW264.7 及び GDL1 に 24 時間曝露し、細胞生存率をトリパンブルーを用いて測定した。その結果 RAW264 と GDL1 のどちらの細胞でも濃度依存的に減少した。また、RAW264 は GDL1 より酸化チタンの影響が大きいことが分かった。これは RAW264 がマクロファージ様細胞であるため、酸化チタンを貪食した後、分解できずに細胞破裂が起こったと考えられた。また、以降の実験は 125、250 µg/mL の曝露濃度で行なった。

次に、*gpt* 遺伝子に対する変異原性の結果、いずれも酸化チタンナノ粒子の用量非依存的であり、共培養よりも単培養で変異頻度が高い傾向が観察された。この結果は先行研究のナノマグネタイトや多層カーボンナノチューブの結果とは異なる結果となった。多層カーボンナノチューブの場合では、マクロファージ様細胞である RAW264.7 細胞が MWCNT を貪食した後、IL-1β や TNF-α が炎症性遺伝子の誘導を行い、さらに一酸化窒素が誘導され、ROS が誘導されることで酸化ストレスにより GDL1 に 8-oxo-dG が形成され変異が誘発されたと考えられている。今回行なった実験で共培養よりも単培養での曝露の方が変異頻度が上昇したのはマクロファージ様細胞である RAW264.7 からの炎症性サイトカインまたは ROS の分泌が GDL1 への変異原性を上昇させるレベルではなかったか、あるいは酸化チタンナノ粒子自身が GDL1 に対して直接的な変異原性を十分に持つ可能性が考えられた。しかしながら、各サンプルのタイターからも、解析が不十分であることが考えられるため、最終的な評価には更なる検討が必要であると思われる。*In vitro* 変異原性試験において AMT-100 の方が TKP-102 より変異頻度が上昇した。AMT-100 は一次粒子径が 6 nm で比表面積が 280 m<sup>2</sup>/g に対

し TKP-102 は AMT より大きく一次粒子径が 15 nm で比表面積が 110 m<sup>2</sup>/g である。一般的には一次粒子径が小さく、比表面積が大きいほど細胞や組織に取り込まれやすく、毒性が現れることから、AMT-100 の方が変異が起きやすいという結果になったと考えられた。

今後、その他の酸化チタンナノ粒子 (JRCNM01001a, JRCNM1005a, MT-150A,) の *gpt* 遺伝子に対する変異原性を調べることで、酸化チタンナノ粒子の形状や粒径などの物理化学的な性質が遺伝毒性に及ぼす影響についてさらに詳細に明らかになると思われる。

#### E. 結論

これまでに肺毒性試験系として、マウス肺より樹立した細胞株(GDL1細胞)とマクロファージ(RAW264.7)を用い、共培養システムの構築を行ない、多層カーボンナノチューブやMGTを用いて、本システムの妥当性の検証を行ってきた。今年度は、5種の酸化チタンナノ粒子 (JRCNM01001a, JRCNM1005a, MT-150A, AMT-100, TKP-102) を用いてナノマテリアルの物理化学的な性質が毒性に及ぼす影響について検討した。

まず、細胞毒性について調べた結果、RAW264 及び GDL1 に対して、いずれの酸化チタンナノ粒子も用量依存的に細胞生存率を低下させることがわかった。また、細胞毒性の程度は GDL1 に比べ RAW264 で顕著であることがわかった。これは RAW264 がマクロファージ様細胞であるため、酸化チタンを貪食した後、分解できずに細胞破裂が起こったと考えられた。さらに、RAW264.7 と GDL1 のどちらの細胞でもアナターゼ とルチルでの結晶の違いでの差は見られなかった。

次に *gpt* 遺伝子における変異原性を調べた。まずは AMT-100 と TKP-102 曝露における *gpt* 遺伝子を標的とした変異原性試験を実施した。いずれも酸化チタンナノ粒子の用量非依存的であり、共培養よりも単培養で変異頻度が高い傾向が観察された。この結果は先行研究のナノマグネタイトや多層カーボンナノチューブの結果とは異なる結果となったが、各サンプルのタイター数からも、解析が不十分であることが考えられるため、最終的な評価には更なる検討が必要であると思われる。*In vitro* 変異原性試験において AMT-100 の方が TKP-102 より変異頻度が上昇する傾向が観察された。AMT-100 は一次粒子径が 6 nm で比表面積が 280 m<sup>2</sup>/g に対し TKP-102 は AMT より大きく一次粒子径が 15 nm で比表面積が 110 m<sup>2</sup>/g である。一般的には一次粒子径が小さく、比表面積が大きいほど細胞や組織に取り込まれやすく、毒性が現れ

ることから、AMT-100の方が変異が起きやすいという結果になったと考えられた。

今後、酸化チタンナノ粒子の形状や粒径などの物理化学的な性質が遺伝毒性に及ぼす影響についてさらに詳細に明らかにするために、その他の酸化チタンナノ粒子（JRCNM01001a, JRCNM1005a, MT-150A）の*gpt* 遺伝子に対する変異原性についても解析することが必要だと思われる。

また、本手法を用いて更に他のナノマテリアルについても検討し、毒性評価に資する情報として活用することを目指す。また、形状やサイズの異なるナノマテリアルや様々な表面修飾を施したナノマテリアルの毒性評価を行なうことで、有用なナノマテリアルのリスク低減化についても検討する。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Lu KT, Yamamoto T, McDonald D, Li W, Tan M, Moi ML, Park EC, Yoshimatsu K, Ricciardone M, Hildesheim A, Totsuka Y, Nanbo A, Putcharoen O, Suwanpimolkul G, Jantarabekkul W, Paitoonpong L, Handley G, K. Bernabe G, Noda M, Sonoda M, Brennan P, Griffin DE., Kurane I. U.S.-Japan cooperative medical sciences program: 22nd International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim, *Virology*, 555, 71-77, 2021.
2. Totsuka Y, Watanabe M, Lin Y. New horizons of DNA adductome for exploring environmental causes of cancer. *Cancer Sci.*, 112, 7-15, 2021.
3. Totsuka Y, Maesako Y, Ono H, Nagai M, Kato M, Gi M, Wanibuchi H, Fukushima S, Shiizaki S, Nakagama H. Comprehensive analysis of DNA adducts (DNA adductome analysis) in the liver of rats treated with 1,4-dioxane. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci.* 96, 180-187, 2020.
4. Tajima Y, Toyoda T, Hirayama Y, Matsushita K, Yamada T, Ogawa K, Watanabe K, Takamura-Enya T, Totsuka Y, Wakabayashi K, Miyoshi N. Novel o-Toluidine Metabolite in Rat Urine Associated with Urinary Bladder Carcinogenesis. *Chem Res Toxicol.* 33, 1907-1914, 2020.
5. Kawanishi M, Yoneda R, Totsuka Y, Yagi T. Genotoxicity of micro- and nano-particles of kaolin in human primary dermal keratinocytes and fibroblasts. *Genes Environ.* 42, 16, 2020.
6. Mimaki S, Watanabe M, Kinoshita M, Yamashita R, Haeno H, Takemura S, Tanaka S, Marubashi S, Totsuka Y, Shibata T, Nakagama H, Ochiai A, Nakamori S, Kubo S, Tsuchihara K. Multifocal origin of occupational cholangiocarcinoma

revealed by comparison of multilesion mutational profiles. *Carcinogenesis.* 41, 368-376, 2020.

### 2. 学会発表

1. 戸塚ゆ加里 NGSによるノンバイアスな変異解析の現状と将来展望 第47回日本毒性学会学術年会シンポジウム(2020年6月 Web開催)
2. 戸塚ゆ加里 集学的アプローチによるがんの要因解明と予防研究への展望 がん予防学術大会(2020年9月 Web開催)
3. 戸塚ゆ加里 Prospects for elucidating the cancer etiology and prevention by multidisciplinary approach 第79回癌学会(2020年10月、広島)
4. 戸塚ゆ加里 集学的アプローチによりがんの要因を解明する 第2回 三陸包括的緩和医療研究会(2020年10月 Web開催)
5. 戸塚ゆ加里 集学的アプローチによるがんの要因解明と予防研究への展望 第49回環境変異原学会(2020年9月、静岡)
6. 戸塚ゆ加里 発がん性評価法としてのDNAアダクトーム解析の展望 第37回日本毒性病理学会(2021年1月、Web開催)
7. 戸塚ゆ加里 発がん性評価法としてのDNAアダクトーム解析の展望 第12回JBFシンポジウム(2021年3月、Web開催)

## 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