

令和 6 年度 食品衛生基準科学研究費補助金（食品安全科学研究事業）
総括研究報告書

研究課題名：香料を含む食品添加物の遺伝毒性評価スキームの構築に関する
基盤研究

研究代表者 杉山 圭一 国立医薬品食品衛生研究所 ゲノム安全科学部

研究要旨

本研究は、*in silico*、*in vitro* 手法を活用した香料を含む食品添加物の階層的な遺伝毒性評価系スキームの確立を目的とした基盤研究となる。

国内での使用量が多い200香料について、4種類のAmes/QSARによる評価と遺伝毒性試験結果に関する情報収集を実施した。4種類のモデル全てで陰性であるのは約8割であった。遺伝毒性試験情報については、200香料中132香料で何等かの遺伝毒性試験結果の情報を得ることができ、42香料でAmes試験陽性（equivocalを含む）の懸念が見られた。QSAR偽陰性の懸念がある香料が存在し、スクリーニング評価を行う際に有益となる知見が得られた。グルタチオン（GSH）補充したTK6試験のコントロール物質として、シクロホスファミドが利用可能であることを明らかにした。並びに、GSHと同じチオール基を有するジチオトレイトールを添加したTK6試験を実施し、GSHが4-メチル-2-ペンタナールの解毒機序の関与と共に、遺伝毒性が陰性となることを考察した。*in vitro*系でGSH解毒機序を理解することは、遺伝毒性評価の精緻化やフォローアップに有用であることが示唆された。TK遺伝子をレポーターとした*in vitro*エピ遺伝毒性試験法（エピTK試験）を用いて、isoeugenol、methyleugenol、trichloroethyleneを評価して陰性の結果を得た。またエピ遺伝毒性陽性の12-O-Tetradecanoylphorbol-13-acetateについて、ヒストンアセチル化を低下させる作用を同定した。*in silico*及び*in vitro*試験で陽性となった4-methoxycinnamaldehyde（MCA）について、*gpt delta*ラットを用いた一般毒性・遺伝毒性・発がん性包括試験を実施した。本年度は28日間の予備試験を実施し、本試験の用量設定、検索臓器を設定した。本試験では、雄性*gpt delta*ラットにMCAを50、150及び500 mg/kgの用量で13週間反復投与し、一般毒性評価を開始した。ナノポア型シーケンサーMinIONを用いて得られた電流値変化データFast5ファイルを、GuppyベースコーラーにてmodBAMファイルに変換することにより、CpGサイトのメチル化情報を取得し、modkitソフトウェアにて自動的にグローバルなメチル化状態を算出する解析系を構築した。標準メチル化DNAを用いた希釈系列サンプルの測定により、メチル化レベルと関連した定量的な測定結果が得られた。

研究分担者

本間正充	国立医薬品食品衛生研究所 所長
安井 学	国立医薬品食品衛生研究所 ゲノム安全科学部 室長
古濱彩子	国立医薬品食品衛生研究所 ゲノム安全科学部 主任研究官
佐々 彰	国立大学法人千葉大学 大学院理学研究院生物学研究 部門 准教授
石井雄二	国立医薬品食品衛生研究所 病理部 室長
鈴木孝昌	国立医薬品食品衛生研究所 ゲノム安全科学部 主任研究官

A. 研究目的

Ames/QSAR は、実試験を必要とせず遺伝毒性を予測しうる点で画期的な技術であるが、更にリードアクロス手法の活用を検討して *in silico* 評価を順次行ない、変異原性のリスクを予測・評価するスキームの確立を目指す。また、*in vitro* 遺伝毒性試験特異的な陽性反応を低減することを目的に、グルタチオン S-トランスフェラーゼ (GST) 代謝をより反映した *in vitro* 遺伝毒性試験の構築を目指す。各種情報ソースから遺伝毒性が疑われた物質については、発がん性包括試験を実施することで精緻に安全性評価を可能とするデータの提供も視野に入れる。さらに、発がんに関与するとされるクロマチン構造変化を伴うエピジェネティックな毒性検出方法の開発も検討する。これら研究を進めることで、香料を含む食品添加物の階層的な遺伝毒性評価系スキームと短期発がん予測の確立に資する基盤データを得る。

A-1. *in silico* 手法を用いた香料スクリーニング評価法の提案 (古濱、本間、杉山) :

遺伝毒性スクリーニング評価には、*in silico* や *in vitro* 手法の活用が効率的で妥当である。本研究課題では、QSAR は、実試験を必要とせず遺伝毒性を予測しうる点で画期的な技術であるが、更にリードアクロス手法の活用を検討する。*in silico* 評価を順次行なって、変異原性のリスクを予測・評価するためのスキームの確立を目指す。

令和 6 年度は、既存のデータや基本情報を整理するため、国内での使用量の多い 200 香料について、QSAR 予測結果と国内外の遺伝毒性情報を収集・整理し、課題点を明らかにすることを目的として研究を進めた。

A-2. グルタチオン補充による第II相薬物代謝を評価に入れた *in vitro* 遺伝毒性試験の構築 (安井、本間、杉山) :

グルタチオン (GSH) は、生体の細胞中に高濃度 (1~10 mM) で存在し、遺伝毒性物質の解毒機序に深く関与している。しかし、GSH による解毒機序は遺伝毒性物質毎にスクリーニングされておらず、遺伝毒性評価に考慮されていない。前研究班において、Ames 試験陽性だが *in vivo* 遺伝子変異試験陰性の 4-メチル-2-ペンテナール (4MP) に対して GSH 補充型 TK6 試験 (GSH-TK6 試験) を実施した結果、4MP は TK6 試験で弱い陽性だったが、1 mM 補充した GSH-TK6 試験では陰性となった。

本研究では、GSH と同じチオール基を有するジチオトレイトール (DTT) を添加した TK6 試験を実施し、4MP の解毒機序を考察した。また、GSH-TK6 試験のコントロール物質としてシクロホスファミドの基礎データを取得した。

A-3. *in vitro* 遺伝毒性試験をプラットフォームとしたエピジェネティック作用評価法の開発と検証 (佐々、本間、杉山) :

香料等の食品添加物について、遺伝毒性に加えエピジェネティックな作用が発がん

に寄与する可能性が示唆されており、今後の安全性評価において新たな観点からの解析が求められる。本研究では、哺乳類細胞を用いた新規 *in vitro* 試験法(エピ TK 試験)により化合物のエピジェネティック変化を評価し、エピジェネティックな陽性応答を示した化合物については作用機序解明を行うことで、エピジェネティックな作用に基づく発がん予測スキームの確立を目指す。

A-4. 包括的毒性試験による *in silico* 評価系の精緻化 (石井) :

Ames 試験では S9 による代謝酵素の制限による偽陰性や、バクテリア特異的代謝による偽陽性が生じることが知られており、Ames/QSAR モデルはこれらの特徴を引き継いでいる。それ故、*in silico* 及び *in vitro* 試験による香料を含む食品添加物の遺伝毒性評価を実現するには、これらの評価結果の精緻化が必要である。そこで本研究では、これまでに Ames/QSAR 及び Ames 試験で陽性となった 4-methoxycinnamaldehyde (MCA) について、*gpt delta* ラットを用いた一般毒性・遺伝毒性・発がん性包括試験を実施し、遺伝毒性結果の真偽を明らかにする。結果に相違があった場合には、その原因と同様の骨格を有する香料の遺伝毒性を考察し、*in silico* 評価へフィードバックする。

A-5. DNA メチル化異常を介したゲノム不安定性誘発作用のスクリーニング系の開発 (鈴木、杉山) :

DNA メチル化等のエピジェネティックな変化の解析は、化学物質等のゲノム影響を評価するにあたり重要である。従来メチル化の解析には Bisulfite 法など煩雑な操作が必要であったが、我々は、ナノポアシーケンサーを用いて直接メチル化塩基を検出することによる簡便迅速な解析手法の開発をめざした。これにより、比較的簡便に DNA のメチル化状態を調べることができれば、DNA メチル化異常を介したゲノム不

安定性誘発作用のスクリーニング系として普及できることが期待される。

B. 研究方法

B-1. *in silico* 手法を用いた香料スクリーニング評価法の提案 (古濱、本間、杉山) :

QSAR 評価は、知識ベースの QSAR は Derek Nexus に加えてブルガリア OASIS TIMES の 2 種類のモデル Ames mutagenicity (non-kinetic model), Ames Mutagenicity S9 activated kinetic を用い、統計ベースは CASE Ultra GT1_BMUT モデルで評価を行った。遺伝毒性情報については、国内情報源として既存化学物質毒性データベース、職場のあんぜんサイトを調査対象とした。国外は、US EPA CompTox Ver.2.4.1 を調査した。CompTox では、データベース上に 1 つ以上の陽性(equivocal)の報告があれば陽性、すべて陰性の報告のものを陰性とした。更に書誌情報 Ono et al. 2012. Food Chem. Toxic. 50, 1538-1546. と Hansen et al. 2009. J. Chem. Inf. Model. 49, 2077-2081. の Ames 試験データも収集対象とした。

B-2. グルタチオン補充による第II相薬物代謝を評価に入れた *in vitro* 遺伝毒性試験の構築 (安井、本間、杉山) :

TK6 試験は、原則として OECD ガイドライン (TG490) に従って行った。4MP は関東化学株式会社 (ACROS organics 製) から購入した。GSH、および DTT (富士フィルム和光純薬工業株式会社) の最終濃度は、それぞれ 1 mM、および 400 μ M になるように処理液中に添加した。代謝活性化条件下のコントロール物質は、シクロホスファミド (CP) (東京化成工業株式会社) を使用した。用量設定試験から始め、本試験の順に実施した。処理細胞数は 10^7 細胞、処理時間は 4 時間で実施した。ラット肝 S9 とコファクターは、家田貿易株式会社から購入した。TK6 試験の本試験の陰性対照群は 2 系列、処理群は 1 系列で実施した。形質発現期間は 3 日間とした。結果判定のための統

計解析は、大森法 (Omori et al., *Mutat. Res.* 517,199-208 (2002)) を用いた。

B-3. *in vitro* 遺伝毒性試験をプラットフォームとしたエピジェネティック作用評価法の開発と検証 (佐々、本間、杉山) :

チミジンキナーゼ (TK) 遺伝子をエピジェネティックに不活化制御したヒト B リンパ芽球細胞 mTK6 株を利用した。ラット S9 mix (家田貿易株式会社) の添加または非添加条件において、被験物質で mTK6 株を 24 時間処理後、aminopterin を添加して 96 穴プレートに播種した。培養 3 週間後の薬剤耐性コロニー数から TK 復帰頻度を算出し、エピ遺伝毒性を評価した。また、クロマチン免疫沈降法を用いて TK 遺伝子座のヒストンアセチル化 (H3K27Ac) を定量した。

B-4. 包括的毒性試験による *in silico* 評価系の精緻化 (石井) :

用量設定試験では、6 週齢の雌雄 F344 ラットに MCA を 50、150 又は 500 mg/kg 体重/日の用量で 28 日間強制経口投与し、血液学的検査、血清生化学検査、主要臓器の重量測定ならびに病理組織学的検査を実施した。本試験では 6 週齢の雄性 *gpt delta* ラットに MCA を 50、150 又は 500 mg/kg 体重/日の用量で 13 週間強制経口投与した。投与終了後、臓器重量測定、血液学的検査及び血清生化学検査を実施した。

B-5. DNA メチル化異常を介したゲノム不安定性誘発作用のスクリーニング系の開発 (鈴木、杉山) :

メチル化 / 標準 DNA (EpiScope® methylated HCT116 gDNA (TaKaRa)) 及び非メチル化標準 DNA (EpiScope® unmethylated HCT116 DKO* gDNA (TaKaRa)) を混合し、メチル化レベルの異なる希釈系列 DNA 標準品を作製し、Rapid Barcoding kit (SQK-RBK004/ONT)によりバーコード化したライブラリーを調整した。MinION フローセル (FLO-MIN 106D/ONT)にて、48 時間シ

ークエンスランを行い、MinKNOW ソフトウェアにより Fast5、及び FASTQ ファイルを生成した。所内のナノポアサーバー PC (Intel Xeon Gold 28corex2) 上に、ナノポアシークエンサーの Raw data である Fast5 ファイルよりメチル化情報を持った modBAM ファイルを生成し、グローバルな DNA メチル化レベルを測定できるシステムを構築した。このデータ解析システムを利用し、測定した DNA サンプルのグローバルメチル化レベル (CpG サイトにおける 5 mC の割合) を算出した。また、DNA メチル化の阻害物質である 5 アザシチジン (5azaC) 処理した細胞より抽出したゲノム DNA を用いて、グローバルメチル化レベルの変化を検討した。

(倫理面への配慮)

動物実験の実施に際しては、各研究施設の規定に従って動物実験倫理委員会の承認を得た後に実施し、実験動物に対する動物愛護に関して十分配慮して行った。また、遺伝子組換え実験については、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律等、遺伝子組換え生物等の第二種使用等に当たって執るべき拡散防止措置等を定める法令に則り、機関承認を得た後に実施した。

C. 研究結果

C-1. *in silico* 手法を用いた香料スクリーニング評価法の提案 (古濱、本間、杉山) :

Derek Nexus、CASE Ultra では、9 割以上が陰性、1 割弱が陽性予測であった。TIMES では、9 割弱が陰性予測であった。4 種類のモデル全てで陰性であるのは 8 割であり、Derek Nexus と CASE Ultra が両方陰性なのは 88% だった。

遺伝毒性試験情報については、200 香料中 132 香料で何等かの遺伝毒性試験結果の情報を得ることができた。42 香料で Ames 試験陽性 (equivocal を含む) の懸念が見られたが、全ての情報ソースで陽性の Ames 試験結果が確認できたのは 16 香料であり、陰

性・陽性が混在している香料も存在した。

C-2. グルタチオン補充による第II相薬物代謝を評価に入れた *in vitro* 遺伝毒性試験の構築 (安井、本間、杉山) :

CP は GSH-TK6 試験の対照物質として利用可能であることが分かった。また、DDT 非添加群の 4MP による変異体頻度は明確に上昇したが、添加群のそれはそうではなかった (陰性判定)。つまり、GST は、GSH 自体の求核性よりも高いチオラートイオン (GS⁻) を生成するため、その関与が濃厚であるが、DTT の抗酸化作用だけでも 4MP の遺伝毒性を抑制できることが明らかとなった。

C-3. *in vitro* 遺伝毒性試験をプラットフォームとしたエピジェネティック作用評価法の開発と検証 (佐々、本間、杉山) :

エピ TK 試験で isoeugenol、methyleugenol、trichloroethylene を評価した結果、溶媒対照 (DMSO) と比較していずれも TK 復帰頻度の有意な変化は見られなかった。なお、S9 mix 未添加と比べて、S9 mix を添加した処理群では TK 復帰頻度の低下傾向がみられた。12-O-Tetra decanoyl phorbol-13-acetate (TPA) を 24 時間処理後さらに 3 日間の回復培養を経て、TK 遺伝子座の H3K27Ac レベルを定量した。その結果、溶媒対照 (ethanol) と比べて TPA 処理後に H3K27Ac レベルが有意に低下した。

C-4. 包括的毒性試験による *in silico* 評価系の精緻化 (石井) :

用量設定試験から、MCA に顕著な毒性は観察されなかった。500 mg/kg 群の雄では体重増加抑制が見られた。また、雄ラットでは肝重量の増加及び腎臓の硝子滴変性の増加が認められた。本試験では、500 mg/kg 群において誤投与による死亡が 1 例と体重増加抑制がみられたものの、その他の動物の一般状態に変化はなく、死亡例は認められなかった。高用量群では、臓器重量、血液学的検査及び血清生化学

検査において種々の変化が見られた。

C-5. DNA メチル化異常を介したゲノム不安定性誘発作用のスクリーニング系の開発 (鈴木、杉山) :

構築した解析系を用いて、陽性対照物質 (5azaC) を処理した細胞のメチル化レベルの変化を測定した結果、グローバルなゲノムメチル化レベルの低下が確認できた。また、メチル化/非メチル化 DNA 標準品を用いた希釈系列サンプルの測定により、再現性のある良好な用量相関性が得られたことから、DNA メチル化レベルの定量的な測定系としての有効性が示された。MinION を用いた測定系は簡便迅速及び比較的安価に細胞のメチル化レベルを解析可能であり、従来法に代わる解析法としての普及が期待できる。

D. 考 察

D-1. *in silico* 手法を用いた香料スクリーニング評価法の提案 (古濱、本間、杉山) :

国内での使用量の多い 200 香料について、QSAR で評価した所、8 割が 4 種類のモデルで陰性となった。その一方で、国内外の遺伝毒性情報源から実試験データを収集した結果は、三分の二の香料で情報が得られたものの、Ames/QSAR 予測結果との比較や、陽性陰性の混在状況を加味すると信頼性の担保に課題がある。特に、今回は US EPA CompTox の情報を安全サイドの基準で収集したが、判定基準の精査と、試験情報の収集と確認・精査が必要である。精査が必要ではあるが、4 種類のモデルの予測が全て陰性で、Ames 試験情報が全ての情報源で陽性になった物質 (偽陽性物質) とその類似の構造を有する物質は、情報精査を行うことで、今後優先して評価が必要であると提言でき、スクリーニング方法の原案につながる。

D-2. グルタチオン補充による第II相薬物代謝を評価に入れた *in vitro* 遺伝毒性試験の構築 (安井、本間、杉山) :

4MP は α,β -不飽和アルデヒドであり、カルボニル基 (C=O) と共役した二重結合を持っている。GSH のチオール基が、4MP の β -炭素に付加するマイケル付加反応が主要な反応経路として予想され、3-(グルタチオン-S-イル)-4-メチルペンタナールの生成物が得られることで、4MP の弱い遺伝毒性が不活化されたと考えられる。しかし、GSH 自体の抗酸化作用は生理的条件下での効率は限定的であり、GST は GSH のチオール基を脱プロトン化し、求核性の高いチオラートイオン (GS⁻) を生成することで、非常にマイケル付加反応を効率良く進めることができるという報告されている (Armstrong RN. *Chem Res Toxicol.* 10:2-18 (1997).)。つまり、GSH 補充による GST の抱合作用と GSH 自体の抗酸化作用のどちらが寄与しているかは、おそらく GST による抱合作用のほうが大きいと考えられる (Hubatsch et al, *Biochem J.* 330 (Pt 1), 175-179 (1998))。

D-3. in vitro 遺伝毒性試験をプラットフォームとしたエピジェネティック作用評価法の開発と検証 (佐々、本間、杉山) :

エピ TK 試験による評価では、trichloroethylene、isoeugenol、methyleugenol のいずれもエピ遺伝毒性は認められなかった。また S9 min を添加した処理群では、TK 復帰頻度の低下傾向が認められたことから、S9 mix を介した代謝活性化がエピゲノム動態を変化させ、TK 復帰頻度の背景値に若干の影響を及ぼした可能性がある。TPA を mTK6 に処理から 3 日後に H3K27Ac レベルが有意に低下したことから、TPA はヒストンアセチル化を低下させる作用を持つことが示唆された。

D-4. 包括的毒性試験による in silico 評価系の精緻化 (石井) :

免疫組織化学染色の結果、雄ラット腎臓で見られた硝子滴は a2u-グロブリンであったことから、雄ラット特有の変化であることが確認された。その他の臓器において投

与による変化は見られず、性差も認められなかったことから、本試験は雄ラットで実施することとした。本試験では、高用量群において体重増加抑制に加え、臓器重量、血液学的検査及び血清生化学検査において種々の変化が見られた。これらの毒性学的意義については病理組織学的解析の結果とともに考察する。

D-5. DNA メチル化異常を介したゲノム不安定性誘発作用のスクリーニング系の開発 (鈴木、杉山) :

標準希釈系列サンプルを用いた測定から、本試験系において DNA メチル化の割合を再現性高く定量的に測定可能なことがわかった。ただし、メチル化割合の絶対値に関しては、理論値 (0-100%) とは異なるため、Bisulfite 法など既存の手法を用いて検証を行う予定である。

一方で、細胞にメチル化阻害剤を処理した実験からは、5azaC 処理によるメチル化割合の減少が見られたが、用量依存性が認められなかったことと、変化がそれほど大きくなかったことから、今後さらに他の陽性物質を用いた検証を行う予定である。

得られた数値の信頼性に関しては今後更なる検証が必要であるが、簡便な解析法として普及できる可能性は確認できた。今回はグローバルなメチル化の解析にとどまったが、今後は、さらに部位特異的にメチル化状態を調べる予定である。

E. 結 論

200 香料について QSAR 評価と既存毒性情報収集を行った。QSAR 陰性で、Ames 試験陽性香料の既存情報があり、今後優先して評価する際の判断基準となる物質について示唆をする情報が得られた。

TK6 試験で使用される被験物質処理液中、および TK6 細胞内の GST 活性を測定し、GSH を補充しない TK6 試験の実験条件では、GST 活性が無いことが明らかにした。また、GSH-TK6 試験のコントロール物質として、

CP が利用可能であることを明らかにした。並びに、GSH と同じチオール基を有する DTT を添加した TK6 試験を実施し、GSH が 4MP の解毒機序の関与と共に、遺伝毒性が陰性となることを考察した。以上、*in vitro* 系で GSH 解毒機序を理解することは、遺伝毒性評価の精緻化やフォローアップに有用であることが示唆された。

エピ TK 試験を基盤として、新たに 3 種の化合物の評価を実施した。また、S9 mix の添加が代謝活性化を介して僅かではあるがエピジェネティックな変化を誘導する可能性が示唆されたことは、今後の基礎データとして有用である。エピ TK 試験において陽性を示した TPA については、その作用機序の同定にも成功し、本試験法の有用性を明確に示す結果となった。

一般毒性・遺伝毒性・発がん性包括試験の用量設定試験から、ラットにおいて 13 週間反復投与が可能な MCA の最大量は 500 mg/kg 体重/日であることを明らかにした。それらの結果をもとに、本試験における投与量を 50、150 及び 500 mg/kg 体重/日に設定し、一般毒性・遺伝毒性・発がん性包括試験を開始した。

ナノポア型シーケンサー MinION を用いて、簡便迅速にゲノム DNA のメチル化を解析する系を構築した。メチル化標準サンプルを用いた検討から、再現性の高い定量結果が得られた。また、5azaC 処理によるゲノムのグローバルメチル化の減少が検出できたことから、化学物質によるゲノム DNA メチル化の変化を簡便にスクリーニングできる可能性が示された。

F. 健康危機情報

該当なし

G. 研究発表

G-1. 誌上発表

- 1) 築茂由則, 吉田徳幸, 大岡伸通, 内田恵理子, 鈴木孝昌, 米満研三, 上間匡, 本間正充, 合田幸広, 井上貴雄: 共通

ウイルスゲノム RNA を用いた COVID-19 診断用核酸増幅検査薬の一斉性能評価試験. 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 2024;55:295-310.

- 2) Furihata C., Suzuki T. Four functional genotoxic marker genes (Bax, Btg2, Ccng1, and Cdkn1a) discriminate genotoxic hepatocarcinogens from non-genotoxic hepatocarcinogens and non-genotoxic non-hepatocarcinogens in rat public toxicogenomics data, Open TG-GATEs. *Genes Environ.* 2024;46:28.
- 3) Hosoi S, Hirose T, Matsumura S, Otsubo Y, Saito K, Miyazawa M, Suzuki T, Masumura K, Sugiyama KI. Effect of sequencing platforms on the sensitivity of chemical mutation detection using Hawk-Seq™. *Genes Environ.* 2024;46:20.
- 4) Ikeuchi S, Hirose S, Shimada K, Koyama A, Ishida S, Katayama N, Suzuki T, Tokairin A, Tsukamoto M, Tsue Y, Yamaguchi K, Osako H, Hiwatashi S, Chiba Y, Akiyama H, Hayashidani H, Hara-Kudo Y. Isolation of Shiga Toxin-Producing Escherichia coli from the Surfaces of Beef Carcasses in Slaughterhouses in Japan. *J Food Prot.* 2024;87:100263.
- 5) Iwasaki K, Tojo A, Kobayashi H, Shimizu K, Kamimura Y, Horikoshi Y, Fukuto A, Sun J, Yasui M, Honma M, Okabe A, Fujiki R, Nakajima NI, Kaneda A, Tashiro S, Sassa A, Ura K. Dose-dependent effects of histone methyltransferase NSD2 on site-specific double-strand break repair. *Genes Cells*, 2024;29:951-965.
- 6) Yamada H, Odagiri M, Yamakita K, Chiba A, Ukai A, Yasui M, Honma M, Sugiyama KI, Ura K, Sassa A. Dual-directional epi-genotoxicity assay for assessing chemically induced epigenetic effects utilizing the housekeeping TK gene. *Sci*

- Rep.* 2025 Mar 5;15(1):7780. doi: 10.1038/s41598-025-92121-6.
- 7) Nakano T, Akamatsu K, Kohzaki M, Tsuda M, Hirayama R, Sassa A, Yasui M, Shoulkamy MI, Hiromoto T, Tamada T, Ide H, Shikazono N. Deciphering repair pathways of clustered DNA damage in human TK6 cells: insights from atomic force microscopy direct visualization. *Nucleic Acids Res.*, 2025;53, gkae1077.
 - 8) Corton JC, Auerbach SS, Koyama N, Mezencev R., Yauk CL., Suzuki T. Review and meta-analysis of gene expression biomarkers predictive of chemical-induced genotoxicity *in vivo*. *Environ. Mol. Mutagen.* 2025: doi: 10.1002/em.22646.
 - 9) Froetschl R., Corton JC., Li H., Aubrecht J., Scott S., Auerbach SS., Caiment F., Doktorova TY., Fujita Y., Jennen D., Koyama N., Meier MJ., Mezencev R., Recio L., Suzuki T., Yauk CL. Consensus findings of an IWGT Workshop on using Transcriptomic Biomarkers to Predict Genotoxicity. *Environ. Mol. Mutagen.* 2025: doi: 10.1002/em.22645.
- G-2. 学会発表
- 1) 効率的な香料の遺伝毒性評価スキーム構築のための *in silico* 手法の活用に関する研究. 古濱彩子、本間正充、杉山圭一. 第 51 回日本毒性学会学術年会, 2023 年 7 月 5 日, 福岡
 - 2) Error-corrected next generation sequencing (ecNGS) の現状. 鈴木孝昌. 第 51 回日本毒性学会学術年会, 2024 年 7 月, 福岡
 - 3) PECC-Seq 法の開発から学ぶエラー修正 NGS(ecNGS)法の残存エラーの要因. 鈴木孝昌、尤馨悦、伊澤和輝、津田雅貴、本間正充、欒洋、杉山圭一. 第 83 回日本癌学会学術総会, 2024 年 9 月, 福岡
 - 4) Uncovering distinct DNA damage responses associated with RNase H2 deficiency and its pathogenic mutation in human TK6 cells. Nakatani K., Terakoshi N., Yamakita K., Tachikawa A., Tanaka H., Watanabe A., Takafuji K., Mayuzumi Y., Yoshimoto Y., Fukuda T., Sugasawa K., Ura K., Sassa A. Gutenberg Workshop RNase H 2024. 2024 年 9 月, Rhein, Germany
 - 5) DNA 鎖切断に起因するインターフェロン応答における核酸センサー cGAS, IFI16 の役割, 寺越 菜央, 山北 啓吾, 安井 学, 本間 正充, 杉山 圭一, 菅澤 薫, 浦 聖恵, 佐々 彰, 第 31 回日本免疫毒性学会学術年会, 2024 年 9 月, 兵庫
 - 6) DNA 修復の機能不全による DNA 鎖切断を伴わない自然免疫応答メカニズムの解明, 田中 陽菜, 山北 啓吾, 安井 学, 本間 正充, 杉山 圭一, 藤木 亮次, 金田 篤志, 菅澤 薫, 浦 聖恵, 佐々 彰, 第 31 回日本免疫毒性学会学術年会, 2024 年 9 月, 兵庫
 - 7) *In vitro* RNA Synthesis Past Oxidative Base Damage by SARS-CoV-2 RNA-Dependent RNA Polymerase. Akagawa M., Grúz P., Sugasawa K., Ura K., Sassa A. 55th Annual Meeting of The Environmental Mutagenesis and Genomics Society. 9/2024 年 9 月, CA, USA
 - 8) 酸化的 RNA 損傷を鋳型とした SARS-CoV-2 由来 RNA 依存性 RNA ポリメラーゼの RNA 合成機構の解明, 赤川 真崇, Grúz Petr, 菅澤 薫, 浦 聖恵, 佐々 彰, 第 47 回日本分子生物学会年会, 2024 年 11 月, 福岡
 - 9) 化学物質に起因するエピジェネティック作用の双方向評価レポーター試験法の確立, 山田 治人, 山北 啓吾, 小田切 瑞基, 安井 学, 本間 正充, 杉山 圭一, 浦 聖恵, 佐々 彰, 第 47 回日本分子生物学会年会, 2024 年 11 月, 福岡
 - 10) 造血幹細胞から B 細胞への分化・増殖

- に果たすヒストンメチル化酵素 NSD2 の機能, 八木 栄飛, 磯野 太一, 岩崎 滉, 河合 智子, 秦 健一郎, 佐々 彰, 浦 聖恵, 第 47 回日本分子生物学会年会, 2024 年 11 月, 福岡
- 11) クロマチン構造に応じたヒストンメチル化酵素 NSD2 の活性ダイナミクス, 磯部 博登, 小池 望実, 佐々 彰, 菊地 正樹, 梅原 崇史, 堀越 直樹, 胡桃坂 仁志, 浦 聖恵, 第 47 回日本分子生物学会年会, 2024 年 11 月, 福岡
 - 12) TK6 細胞を用いたグルタチオン補充型 *in vitro* 遺伝子突然変異試験によるフォローアップの試み. 安井学, 鶴飼明子, 本間正充, 杉山圭一. 日本環境変異原ゲノム学会第 53 回大会, 2024 年 12 月, 岡山
 - 13) RNA のイノシン修飾がゲノム恒常性維持に果たす役割の解明, 吉田 昭音, 北村 蒼史, Yu-Hsien HWANG-FU, Zachary JOHNSON, 浦 聖恵, 佐々 彰, 日本環境変異原ゲノム学会第 53 回大会, 2024 年 12 月, 岡山
 - 14) O6-メチルグアニン DNA メチルトランスフェラーゼが炎症応答制御に果たす役割の解明, 古西 乃々香, 北村 蒼史, 鶴飼 明子, 安井 学, 本間 正充, 杉山 圭一, 浦 聖恵, 佐々 彰, 日本環境変異原ゲノム学会第 53 回大会, 2024 年 12 月, 岡山
 - 15) DNA 損傷応答と RNA 修飾の新規クロストークの同定, Sujin SONG, 吉田 昭音, 北村 蒼史, 立川 明日香, Yu-Hsien HWANG-FU, Zachary JOHNSON, 浦 聖恵, 佐々 彰, 日本環境変異原ゲノム学会第 53 回大会, 2024 年 12 月, 岡山
 - 16) ATAC-seq によるクロマチン構造変化を指標とした高次ゲノム不安定性評価. 山北 啓吾, 安井 学, 本間 正充, 杉山 圭一, 藤木 亮次, 金田 篤志, 浦 聖恵, 佐々 彰, 日本環境変異原ゲノム学会第 53 回大会, 2024 年 12 月, 岡山
 - 17) *gpt delta* ラットを用いた 6-methoxyquinoline の *in vivo* 変異原性の評価, 高須伸二, 石井雄二, 相馬明玲, 笠松建吾, 山上洋平, 豊田武士, 小川久美子, 第 53 回日本環境変異原ゲノム学会, 2024 年 12 月, 岡山
 - 18) 河川水のメタゲノム解析による細菌叢と薬剤耐性遺伝子の探索. 鈴木孝昌, 西川可穂子. 日本環境変異原ゲノム学会第 53 回大会, 2024 年 12 月, 岡山
 - 19) ナノポアシーケンサーを用いた簡便迅速な DNA メチル化解析手法の開発. 鈴木孝昌, 杉山圭一. 日本環境変異原ゲノム学会第 53 回大会, 2024 年 12 月, 岡山
 - 20) *In vivo* トキシコゲノミクス試験に有用な 4 つの遺伝毒性マーカー遺伝子 (Bax, Btg2, Ccng1, Cdkn1a) . 降旗千恵, 鈴木孝昌. 日本環境変異原ゲノム学会第 53 回大会, 2024 年 12 月, 岡山
 - 21) 魚類腸内細菌叢解析を用いた水環境中の界面活性剤のモニタリングに関する研究. 東航平, 鈴木孝昌, 青木康展, 山田雅巳. 日本環境変異原ゲノム学会第 53 回大会, 2024 年 12 月, 岡山
 - 22) “Error-corrected next-generation sequencing (NGS)” as an ultimate tool for genetic toxicology. 鈴木孝昌. 第 47 回インド環境変異原学会年会, 2025 年 1 月, アンナマライ/インド
 - 23) *In silico* mutagenicity assessments of furan compounds related to flavor. Furuhashi A, Kameyama A, Honma M, Sugiyama K. The SOT 64th Annual Meeting and ToxExpo, 2025 年 3 月, 米国オーランド
 - 24) Investigations of the mechanism underlying acetamide-induced hepatocarcinogenesis in rat. Ishii Y., Nakamura K., Yamagami Y., Takasu S., Nohmi T., Toyoda T., Shibutani M., Ogawa K., SOT2025, 2025 年 3 月, 米国

別添 3

H. 知的財産権の出願・登録状況

H-1. 特許取得

該当なし

H-2. 実用新案登録

該当なし

H-3.その他

該当なし