

厚生労働科学研究費補助金（労働安全衛生総合研究事業）
平成30年～令和2年度総合研究報告書

芳香族アミンの膀胱に対する傷害性および発がん性における構造特性の影響（H30-労働-一般-010）

研究代表者 豊田武士 国立医薬品食品衛生研究所 病理部 室長
研究分担者 小川久美子 国立医薬品食品衛生研究所 病理部 部長

研究要旨

本研究では、オルト-トルイジンと類似構造を有する複数の芳香族アミンをラットに短期間投与し、膀胱における細胞・遺伝子動態に及ぼす影響を、病理組織学的検索ならびに γ -H2AXをはじめとするDNA損傷因子等の発現解析を通じて明らかにし、当該解析手法による包括的評価への応用について検討することを目的とする。平成30年度から令和2年度にかけて、計17種の芳香族アミンについてラット28日間反復経口投与試験を実施し、うち7物質（4-CT, AAT, ABA, σ -AT, DXB, AAB, MDA）が空胞変性・過形成等の膀胱傷害を示すこと、その傷害機序は病理組織学的検索・遺伝子発現解析により大きく2タイプに分類できることを明らかにした。先行研究における結果を加えると、ラット膀胱に対して発がん性を示すことが知られている芳香族アミン11物質のうち9物質が γ -H2AX形成の増加を示し（感度81.8%）、膀胱発がん性のない14物質では12物質が陰性であった（特異度85.7%）。以上の結果から、病理組織学的検索および γ -H2AX免疫染色を用いた本評価手法は、芳香族アミンの膀胱傷害性および発がん性の短期スクリーニング評価に有用であることが示された。本手法は芳香族アミンを含む化学物質の安全性評価において通常実施される、28日間反復経口投与毒性試験への組み込みが容易であり、新たな動物実験を必要としない。動物実験の3Rに貢献し、試験期間短縮・費用削減につながるとともに、芳香族アミンの適切なリスク評価への活用が期待される。

A. 研究目的

芳香族アミンは染料・顔料の製造原料として汎用されるが、発がん性への懸念から各国で規制が進められている。平成27年には、芳香族アミンを取り扱う民間事業場において膀胱がんが多発した事例が報告されるなど、適正なリスク管理の重要性が改めて認識されている。膀胱発がん性を示す芳香族アミンには、定型的な*in vitro*遺伝毒性試験では陰性ながら、生体内でDNA損傷を誘発する可能性が示唆されるなど、発がん機序の本態がいまだ不明なものが多く含まれる。

我々は先行研究として、互いに類似した構造を持つ5種の芳香族アミンをラットに28日間経口投与し、膀胱粘膜における細胞・遺伝子動態への影響を検索した（厚生労働科学研究費補助金：化学物質リスク研究事業H28-化学-若手-005）。その結果、膀胱発がん性が報告されているオルト-トルイジンおよびオルト-アニジンの2種のみが、DNA損傷マーカーである γ -H2AX形成の増加を誘導し、膀胱粘膜にDNA損傷を引き起こすことが示唆された。遺伝子発現解析では、両物質はともに細胞周期・DNA損傷・分化関連遺伝子の特徴的に変動させることが明らかとなり、短期間の投与によって膀胱への傷害性および発がん性を検出し得る可能性が示された。5種の投与物質はいずれも芳香族アミンとして基本的な構造を有することから、包括的リスク評価における基礎データとして活用し得ると考えられる。

本研究では、オルト-トルイジンと類似構造を有する複数の芳香族アミンをラットに投与し、膀胱における

細胞・遺伝子動態に及ぼす影響を、病理組織学的検索ならびに γ -H2AXをはじめとするDNA損傷因子等の発現解析を通じて明らかにし、当該解析手法による包括的評価への応用について検討することを目的とする。

B. 研究方法

平成30年度から令和2年度にかけて、6週齢の雄F344ラットに、オルト-トルイジンまたはオルト-アニジンに類似した構造を持つ芳香族アミン計17種：1% / 0.5% 4-クロロ-オルト-トルイジン（4-CT）、0.5% 5-クロロ-オルト-トルイジン（5-CT）、0.5% / 0.25% オルト-アミノアゾトルエン（AAT）、1% / 0.5% 2-アミノベンジルアルコール（ABA）、1% オルト-アセトトルイジン（ σ -AT）、0.4% 3,3'-ジメトキシベンジジン（DXB）、0.5% 2,4-ジアミノアニソール（DAA）、0.1% 2,4-ジアミノトルエン（2,4-DAT）、0.5% 2-アミノ-*m*-クレゾール（2-AC）、0.3% 4-アミノ-*m*-クレゾール（4-AC）、0.5% *N*-アセチルアントラニル酸（AAA）、0.01% 5-ニトロ-オルト-トルイジン（PNOT）、0.1% 3,3'-ジクロロベンジジン（DCB）、0.5% 4-アミノアゾベンゼン（AAB）、0.08% 4,4'-メチレンジアニリン（MDA）、0.1% 4,4'-メチレンビス-2-クロロアニリン（MOCA）、1% アントラニル酸（AA）を4週間混餌または（MDAのみ）飲水投与した。各物質の投与濃度は、4週間の最大耐量として設定した。投与開始後2日、1週、2週および4週時点で解剖し、膀胱を採材した。ホルマリン固定パラフィン包埋標本を作製し、膀胱粘膜の病理組織学的検索および免疫組織化学的手法による

γ -H2AX 形成の定量解析を実施した。膀胱尿路上皮における γ -H2AX 陽性細胞をカウントし、陽性率を対照群と比較した。

また、4 物質：1%/0.5% 4-CT、0.25% AAT、0.5% ABA、1% α -AT 投与群については、膀胱粘膜から抽出した RNA を用いて、膀胱がんとの関連が指摘される遺伝子群（DNA 損傷および細胞周期；各 84 遺伝子）の PCR アレイ（QIAGEN）による発現解析を行った。

（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程に基づき、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

平成 30 年度から令和 2 年度にかけて、芳香族アミン 17 種をラットに 4 週間反復経口投与し、経時的に採取した膀胱における病理組織学的検索および γ -H2AX 形成の定量解析により、被験物質による膀胱への傷害性および発がん性の有無について評価を行った。

病理組織学的検索の結果、1% 4-CT および α -AT 投与群には、投与 1 週目以降、経時的な病理学的変化が認められた（図 1）。投与 1 週目の時点で、両群の膀胱粘膜は肉眼的に暗褐色を呈し、病理組織学的に粘膜内出血、上皮細胞の壊死脱落および間質結合織・血管の壊死が広範囲に認められた。2 週から 4 週目にかけては、これら出血・壊死を伴う急性病変は局所的に残存した一方、尿路上皮のび慢性単純過形成、単核細胞浸潤を特徴とする慢性炎症および間質における肉芽組織増生が顕著となった。

一方、AAT、ABA、DXB、MDA 投与群では、膀胱尿路上皮における軽微～軽度の単純過形成が認められた（図 2）。DXB、ABA、MDA 投与群においては、尿路上皮細胞の空胞変性が時折認められた。対照群および他の投与群では、いずれの時点においても明らかな膀胱病変は観察されなかった。

膀胱尿路上皮における γ -H2AX 形成について、免疫組織化学的手法による解析を実施した（図 3）。尿路上皮細胞 1000 個あたりの γ -H2AX 陽性細胞数を計測した結果、4-CT、AAT、ABA、 α -AT、DXB、AAB 投与群では、対照群と比較して γ -H2AX 陽性細胞の有意な増加が認められ、MDA 投与群では統計学的有意差は伴わないものの、増加傾向が観察された（図 4～6）。他の投与群では、 γ -H2AX 陽性細胞の増加は観察されなかった。

1%/0.5% 4-CT、0.25% AAT、0.5% ABA、1% α -AT 投与群を対象に、4 週間投与後の膀胱粘膜から RNA を抽出し、細胞周期・DNA 損傷関連遺伝子（各 84 遺伝子）の発現動態を PCR アレイにより解析した。その結果、いずれの項目についても、1% 4-CT と α -AT、および AAT と ABA がそれぞれ類似した発現プロファイルを示すことが明らかとなった。

また、0.5% および 1% 4-CT 投与群において、病理組織学的変化ならびに γ -H2AX 形成の程度を比較した結果、1% 4-CT 投与群では出血・壊死や過形成等の病変が誘発されたのに対し、0.5% 4-CT 投与群には明らかな膀胱病変は認められなかった。同様に、1% 4-CT 投与群の

膀胱には γ -H2AX 陽性細胞の有意な増加が認められたが、0.5% 4-CT 投与群における陽性率は対照群と同レベルであった（図 7）。

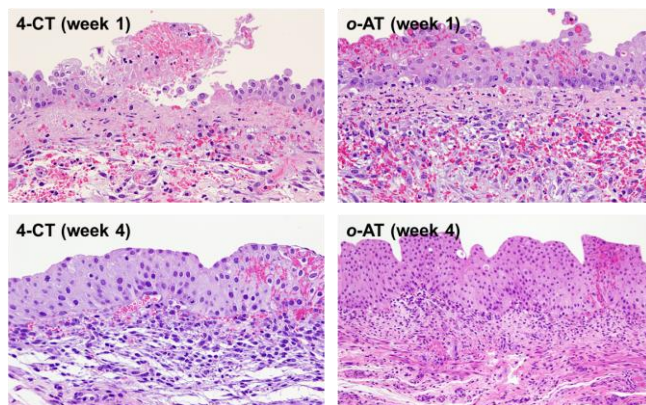


図 1. 4-CT および α -AT 投与群における膀胱病変。Week 1：粘膜内出血、上皮細胞の壊死脱落および間質結合織・血管の壊死。Week 4：び慢性単純過形成、単核細胞浸潤を特徴とする慢性炎症および間質における肉芽組織増生。

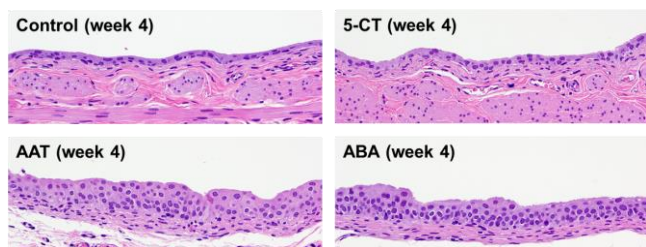


図 2. 対照群および 5-CT・AAT・ABA 投与群における膀胱粘膜。AAT・ABA 投与群には、尿路上皮の軽微～軽度の単純過形成が認められた。

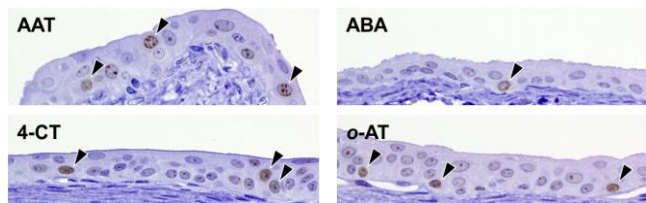


図 3. 投与 4 週目の膀胱における γ -H2AX 陽性細胞（矢頭）。 γ -H2AX は核内において、特徴的なドット状の陽性像を示した。

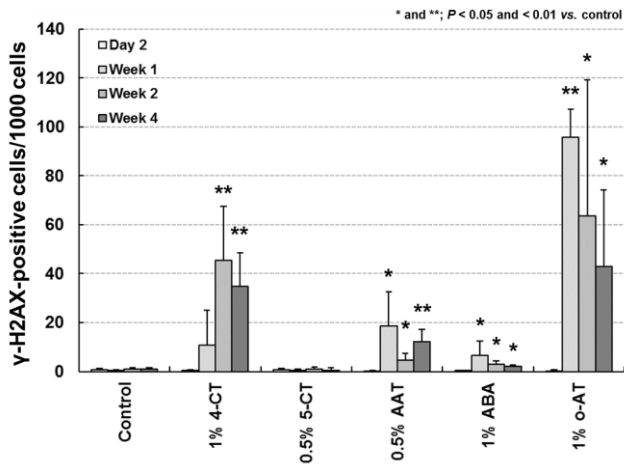


図4. ラット膀胱尿路上皮細胞における γ -H2AX陽性細胞の定量解析(平成30年度検討分、Student *t*-test)。

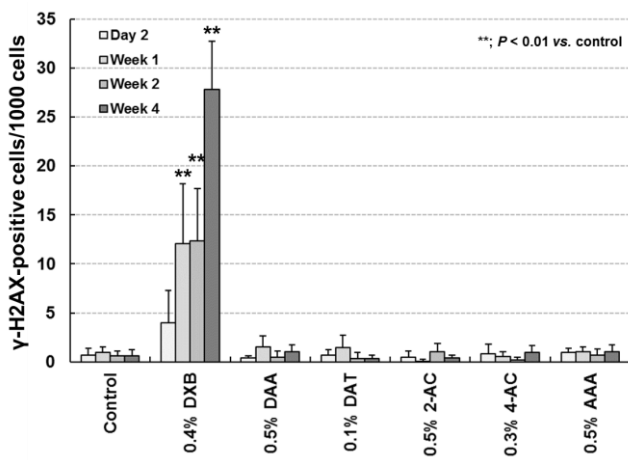


図5. ラット膀胱尿路上皮細胞における γ -H2AX陽性細胞の定量解析(令和元年度検討分)。

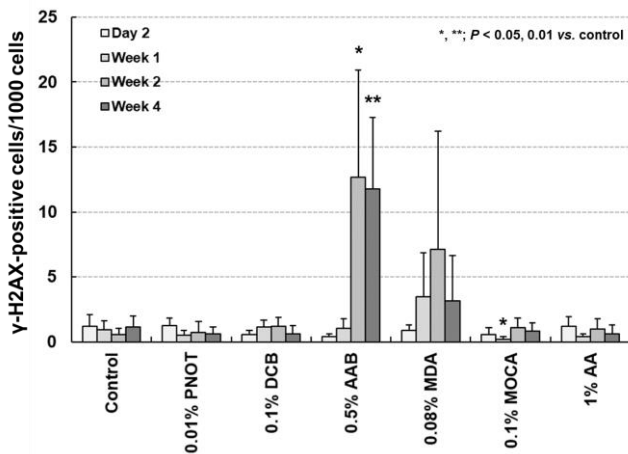


図6. ラット膀胱尿路上皮細胞における γ -H2AX陽性細胞の定量解析(令和2年度検討分)。

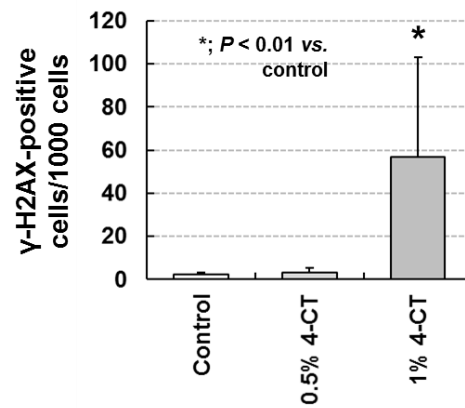


図7. 0.5%または1% 4-CTを投与したラット膀胱尿路上皮細胞における γ -H2AX陽性細胞の定量解析。

D. 考察

平成30年度から令和2年度にかけて検討した17種の芳香族アミンのうち、7物質(4-CT, AAT, ABA, *o*-AT, DXB, AAB, MDA)はラットへの4週間の反復経口投与により、過形成等の膀胱病変および尿路上皮における γ -H2AX陽性細胞の増加を誘導することが明らかになった。

病理組織学的検索により、上記の7物質のうち4-CTおよび*o*-ATはラット膀胱に対して、粘膜内出血等の急性傷害から慢性炎症および慢性過形成に至る、一連の経時的な病理学的変化を誘発することが明らかとなり、これはオルト-トルイジンによる膀胱病変の形成過程に類似していた。また、他の5物質(AAT, ABA, DXB, AAB, MDA)は尿路上皮の空胞変性や単純過形成を引き起こした一方で、壊死や重度の炎症は伴わず、オルト-アニシジンによる病態と類似することが示された。

遺伝子発現解析を実施した4物質の中で、4-CTと*o*-AT, AATとABAはそれぞれ類似した発現動態を示した。4-CTと*o*-AT, AATとABAにみられた遺伝子発現パターンの類似は、病理組織学的検索で認められた特徴と一致しており、芳香族アミンの膀胱傷害機序が大きく2タイプに分けられることを裏付ける結果と考えられる。

免疫組織化学的検索により、膀胱傷害性を示したこれらの7物質は膀胱尿路上皮における γ -H2AX陽性細胞を増加させ、膀胱粘膜に対してDNA損傷を誘導することが示唆された。4-CTおよび*o*-AT投与群においては、陽性細胞率はいずれも1-2週目に最大となり、4週目にかけてやや減少するパターンを示し、病理所見の変化に対応している可能性が考えられた。

4-CTは労働曝露と膀胱がんとの関連を示す疫学調査の結果が、小規模な研究ではあるが得られている(IARC, 2010)。一方、齧歯類を用いたがん原性試験では、4-CTはマウスにおいて血管系腫瘍を誘発するものの、ラットに対する発がん性は認められなかったと報告されている。4-CT混餌投与による2件のラットがん原性試験における最高用量は、それぞれ0.4%(SD系、3ヶ月目以降は0.1%に減量)および0.5%(F344系)と、本研究で膀胱傷害・ γ -H2AX形成の増加を示した用量(1%)の半量以下であった(NTP, 1979; Weisburger *et al.*,

1978)。

また、本研究では 0.08% MDA 投与群においても、単純過形成等の膀胱傷害および γ -H2AX 陽性細胞の増加傾向が認められた。MDA はラット 2 年間がん原性試験において、甲状腺濾胞上皮細胞癌および肝腫瘍を引き起こすことが報告されているが (IARC, 1986)、その投与量は 0.03% であり、本研究で用いた用量 (0.08%) の半量以下であった (NTP, 1983; Weisburger *et al.*, 1984)。

我々は本研究において、4-CT について過去のがん原性試験と同用量 (0.5%) の群では、1% 投与群にみられた膀胱病変・ γ -H2AX 陽性率増加が誘発されないことを確認した。これは先行研究におけるオルト-トルイジンでの結果、すなわち 0.8% 投与群で観察された顕著な膀胱病変および γ -H2AX 陽性細胞の有意な増加は、いずれも 0.4% 投与群では観察されなかったことと類似している (Toyoda *et al.*, Arch Toxicol, 2019)。これらの結果は、膀胱粘膜上皮に傷害を及ぼし、DNA 損傷を誘導する特定の代謝物 (あるいは未変化体) が尿中に現れるための閾値が存在する可能性を示唆している。別途検証が必要ではあるが、高用量での投与が継続可能である場合、4-CT および MDA はラット膀胱に対しても潜在的な発がん性を有する可能性があると考えられた。

AAT および DXB はラットに対し膀胱腫瘍を誘発することが報告されているが (IARC, 1974; IARC, 1975)、詳細な膀胱傷害・発がん機序は不明であった。本研究により、両物質の膀胱発がん機序はオルト-アニシジンと類似する可能性が示唆された。DXB はオルト-アニシジンがベンジジン転位により結合した構造を持ち、両物質による膀胱傷害機序の類似性と関連している可能性が示唆される。

AAB はラットに対し肝腫瘍を誘発することが報告されているが (IARC, 1975)、1940 年代に実施された非常に古い実験に基づいており (Kirby & Peacock, 1947)、膀胱に対する詳細な影響については不明である。我々の結果は、AAB が膀胱傷害性を示すことを初めて明らかにするとともに、潜在的な発がん性を有する可能性を示唆するものであり、今後さらに詳細な検討が必要と思われる。

2-AC, 4-AC, ABA, AA, AAA はいずれもオルト-トルイジンの代謝物であるが、2-AC・4-AC はオルト-トルイジンの解毒機構に関与すると考えられており、本研究においても両物質は膀胱傷害性を示さなかった。一方、ABA は γ -H2AX 形成の増加を誘導することが示され、代謝経路において ABA の下流に位置する AA・AAA は膀胱傷害や γ -H2AX 形成を誘導しなかった。これらの結果は、AA の生成がオルト-トルイジン代謝における解毒機構として重要であることを示唆すると考えられる。

検討した他の芳香族アミンのうち、PNOT・DCB・MOCA 投与群の膀胱には、明らかな病理組織学的所見および γ -H2AX 形成の増加は認められなかった。これらの物質はいずれも過去のがん原性試験において、ラット膀胱に対して発がん性を示さないことが報告されている。この結果は、膀胱傷害性・発がん性の早期検出における、病理組織学的検索および γ -H2AX 免疫染色の特異性の高さを支持するものと考えられる。

本研究および先行研究を通じて、計 31 種の芳香族ア

ミンについて、28 日間反復経口投与後の膀胱尿路上皮における γ -H2AX 形成の定量解析を実施した (図 8)。ラット膀胱に対して発がん性を示すことが知られている 11 物質のうち 9 物質が γ -H2AX 形成の増加を示し (感度 81.8%)、膀胱発がん性のない 14 物質では 12 物質が陰性であった (特異度 85.7%)。以上の結果から、病理組織学的検索と γ -H2AX 免疫染色を併用した本評価手法は、芳香族アミンによる膀胱傷害・発がん性の短期スクリーニング評価に有用であることが示された。

		+	-	ND
Y-H2AX 形成 (膀胱上皮)	+	9 AAT, DXB, o-Toluidine, o-Anisidine, p-Cresidine, 2-Nitroanisole, 2-Nitrosotoluene, 4-Chloro-o-phenylenediamine, Aminophenylnorharman	2 4-CT, MDA*	3 o-AT, ABA, AAB
	-	2 4-Amino-2-nitrophenol, m-Cresidine	12 5-CT, DAA, 2,4-DAT, PNOT, DCB, MOCA, AA, 2,4-Xylydine, p-Toluidine, Aniline, 3,3'-Dimethylbenzidine, 2,6-Diaminotoluene	3 2-AC, 4-AC, AAA

ND, not determined. *有意差なし

図 8. 膀胱尿路上皮における γ -H2AX 形成を指標としたラット膀胱発がん物質の検出

E. 結論

本研究の結果から、病理組織学的検索および γ -H2AX 免疫染色を用いた本評価手法は、芳香族アミンの膀胱傷害性および発がん性の短期スクリーニング評価に有用であることが示された。本手法は芳香族アミンを含む化学物質の安全性評価において通常実施される、28 日間反復経口投与毒性試験への組み込みが容易であり、新たな動物実験を必要としない。動物実験の 3R に貢献し、試験期間短縮・費用削減につながるとともに、芳香族アミンの適切なリスク評価への活用が期待される。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yamada T, **Toyoda T**, Matsushita K, Cho YM, Akagi J, Morikawa T, Mizuta Y, **Ogawa K**. Expression of stem cell markers as useful complementary factors in the early detection of urinary bladder carcinogens by immunohistochemistry for γ -H2AX. *Arch Toxicol*, 95: 715-26, 2021
- 2) Kobayashi T, **Toyoda T**, Tajima Y, Kishimoto S, Tsunematsu Y, Sato M, Matsushita K, Yamada T, Shimamura Y, Masuda S, Ochiai M, **Ogawa K**, Watanabe K, Takamura-Enya T, Totsuka Y, Wakabayashi K, Miyoshi N. o-Anisidine dimer, 2-methoxy-N⁴-(2-methoxyphenyl) benzene-1,4-diamine, in rat urine associated with urinary bladder carcinogenesis. *Chem Res Toxicol*, 34: 912-9, 2021
- 3) Suzuki S, Gi M, **Toyoda T**, Kato H, Naiki-Ito A,

Kakehashi A, Ogawa K, Takahashi S, Wanibuchi H. Role of γ -H2AX as a biomarker for detection of bladder carcinogens in F344 rats. *J Toxicol Pathol*, 33: 279-85, 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. A novel *o*-toluidine metabolite in rat urine associated with urinary bladder carcinogenesis. *Chem Res Toxicol*, 33: 1907-14, 2020

5) 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*, 40: 1219-27, 2020

6) 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*, 42: 15, 2020

7) 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*, 93: 753-62, 2019

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*, in press

9) 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*, 834: 51-5, 2018

2. 学会発表

1) 豊田武士、松下幸平、山田貴宣、赤木純一、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：用量相関性の検討. 第37回日本毒性病理学会総会及び学術集会、Web開催(2021年1月)

2) 豊田武士、小川久美子. ラット膀胱粘膜における γ -H2AX形成を指標とした芳香族アミンの膀胱傷害性および発がん性評価. 第79回日本癌学会学術総会、Web開催(2020年10月)

3) 豊田武士、山田貴宣、松下幸平、森川朋美、小川久美子. オルト-トルイジン類似構造を持つ芳香族アミンによるラット膀胱傷害および遺伝子発現解析. 第47回日本毒性学会学術年会、Web開催(2020年6月)

4) 赤木純一、曹永晩、豊田武士、水田保子、小川久美子. 非臨床試験における組織標本を用いた肝発がん物質早期スクリーニングのためのバイオマーカーの探索. 日本薬学会第141年会、Web開催(2021年3月)

5) 赤木純一、曹永晩、豊田武士、水田保子、井手鉄哉、小川久美子. ラット肝臓標本を用いた肝発がん物質早期検出のためのバイオマーカーの探索. 第37回日本毒性病理学会総会及び学術集会、Web開催(2021年1月)

6) 小林琢磨、田島悠也、豊田武士、岸本真治、松下幸平、山田貴宣、小川久美子、渡辺賢二、高村岳樹、戸塚ゆ加里、若林敬二、三好規之. *o*-Anisidine曝露ラット尿中代謝物の探索. 日本環境変異原学会第49回大会、Web開催(2020年11月)

7) 赤木純一、豊田武士、小川久美子. 肝発がん物質投与ラット肝細胞における γ -H2AX誘導と細胞増殖活性の相関. 第79回日本癌学会学術総会、Web開催(2020年10月)

8) 小林琢磨、田島悠也、豊田武士、岸本真治、松下幸平、山田貴宣、小川久美子、渡辺賢二、高村岳樹、戸塚ゆ加里、若林敬二、三好規之. *o*-Anisidine曝露ラット尿中代謝物の探索. がん予防学術大会2020、Web開催(2020年9月)

9) 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 (2020.3)

10) 豊田武士、山田貴宣、松下幸平、赤木純一、曹永晩、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)

11) 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)

12) 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)

13) 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)

14) 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 (2020.3)

15) 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)

16) 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)

17) 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)

18) 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*-クレンジンの遺伝毒性を FFPE-RNA-Seq で評価. ACEM/JEMS 2019、東京 (2019 年 11 月)

19) 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)

20) 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)

21) 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)

22) 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)

23) 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)

24) 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)

25) 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 (2018.11)

26) 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 (2018.11)

27) 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)

28) 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)

29) 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)

30) 豊田武士、山田貴宣、鈴木周五、松下幸平、曹永晚、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)

31) 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)

32) 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)

33) 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)

34) 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)

H. 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