

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）  
令和2年度総括研究報告書

化審法における監視化学物質・優先評価化学物質の長期毒性評価スキームの創出に関する研究  
(20KD0101)

研究代表者 鰐淵 英機 大阪市立大学 分子病理学 教授

### 研究要旨

本研究では化学物質の標的となる臓器の大半は肝臓であることに着目し、肝発がん性を短期で高精度に検証できるシステムを確立するとともに、問題となる「監視化学物質」及び「優先評価化学物質」について発がん性評価を行う。非遺伝毒性肝発がん物質に対する検出法の確立を目指し、本年度は非遺伝毒性肝発がん物質 11 種類と、非発がん物質 5 種類の合計 16 種について検討した。ラット 28 日間反復投与試験に基づき投与した肝臓における遺伝子発現情報をマイクロアレイにより取得し、我々が構築した非遺伝毒性肝発がん物質検出法の改良を行い、肝発がん性を予測した。その結果、感度 45% (5/11 物質)、特異度 100% (5/5) の結果が得られ、過去に検討した化学物質の結果と合わせて、感度 65%、特異度 98%、正答率が 86% の高い精度で検出できる可能性が示唆された。遺伝子セットを用いた遺伝毒性肝発がん物質短期検出法の有用性の検証では、「監視化学物質」及び「優先評価化学物質」を含む 6 化学物質について検討した結果、「陽性」と判定されたものは、2 遺伝毒性肝発がん物質であった。しかし、「優先評価化学物質」の phenylenediamine を含めたそれ以外の 3 遺伝毒性肝発がん物質は「陰性」と判定された。遺伝毒性陽性で発がん性不明の「監視化学物質」DB-134 は「陰性」と判定された。今後、検出精度を確認するに、偽陰性物質について投与量を上げて再評価する必要があると考えられる。これまでに取得した 69 物質に対して、我々が構築した遺伝子セットを用いた検出法は遺伝毒性肝発がん物質を、感度 83%、特異度 95%、正答率 90% の高い精度で検出できる可能性が示唆された。さらに、遺伝毒性肝発がん物質短期検出法の検証で得られた肝組織を用いた DNA アダクトーム解析による評価を行った。線形判別分析により、非遺伝毒性非肝発がん物質、遺伝毒性非発がん物質、非遺伝毒性肝発がん物質、遺伝毒性肝発がん物質の 4 つのグループに分離されることが判明した。

### 研究分担者

横平政直 香川大学医学部 腫瘍病理学 准教授  
豊田武士 国立医薬品食品衛生研究所病理部 室長  
加藤寛之 名古屋市立大学 実験病態病理学 助教  
鈴木周五 大阪市立大学 分子病理学 准教授  
魏 民 大阪市立大学 環境リスク評価学 准教授  
戸塚ゆ加里 国立がん研究センター研究所 ユニット長

発がん性評価を行う。平成29年度～令和元年度「化学物質の有害性評価の迅速化・高精度化・標準化に関する研究」（鰐淵班）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超短期検出法」及び「DNA アダクトーム解析による遺伝毒性評価」はいずれも正答率が9割を超える高精度試験系であるが、初年度から次年度に「監視化学物質」及び「優先評価化学物質」を含め化学物質数を増やし、より信頼性の高い評価法へと発展させる。加えて「遺伝子セットを用いた遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法」のOECDテストガイドライン化を目指す。また、上記試験法で解決できない非遺伝毒性肝発がん物質に対する試験法確立を目指す。以前に非遺伝毒性肝発がん物質の発がん機序ごとに選出した遺伝子を組み合わせ「遺伝子セットを用いた非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法」を確立したが、その検出力を動物実験を行い検証する。初年度は既知の非遺伝毒性肝発がん物質を主体に、次年度以降は「監視化学物質」及び「優先評価化学物質」を含め検証及び改良し、最終的にOECDテストガイドラインへ化を目指す。これら3つの試験法を基に、短期肝発がん性総合評価スキームの確立を目指す。

令和2年度は、非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法を確立するために用いた陽性対照化学物質3つを含む16化学物質について、ラット28日間反復投与試験を実施し、肝組織を採取、RNAを抽出・生成し、網羅的遺

### A. 研究目的

化審法の規制区分「監視化学物質」及び「優先評価化学物質」には、スクリーニング毒性試験の結果から健康影響の懸念を評価されているものの、慢性毒性や発がん性が不明の物質が多く存在する。しかし、それらの物質を全て長期試験により検討することは、莫大な費用や時間等を必要とするため困難である。そこで、化学物質の発がん性を迅速に、かつ高精度に評価できる試験法および試験スキームの確立は、社会的にも経済的にも非常に重要であり、国民生活の安全・安心を保証する。

本研究では化学物質の標的となる臓器の大半は肝臓であることに着目し、肝発がん性を短期で高精度に検証できるシステムを確立するとともに、問題となる「監視化学物質」及び「優先評価化学物質」について

伝子発現解析を行い、各化学物質について判定を行った(大阪市立大/鰐淵・鈴木、香川大/横平、国立衛研/豊田、名古屋市立大/加藤)。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の有用性の検証では、「監視化学物質」及び「優先評価化学物質」を含む6化学物質について、検討を行った(大阪市立大/鰐淵・魏)。さらに、DNAアダクトーム解析を用いて化学物質のDNA損傷を指標とした安全性評価法を確立するために、遺伝毒性肝発がん物質短期検出モデルで得られた肝臓組織を用いて化学物質の投与に相関する付加体群について検討した(国立がん研究センター/戸塚、大阪市立大/鰐淵)。

## B. 研究方法

### 1. 遺伝子セットを用いた非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法の確立(鰐淵、横平、豊田、加藤、鈴木)

OECD テストガイドラインの TG407:げっ歯類における28日間反復経口投与毒性試験を基に動物実験を行った。6週齢SD雄ラットに被験物質を28日間投与後に屠殺剖検を行い肝臓を採取した。今回は、優先評価化学物質を2物質含む、非遺伝毒性肝発がん物質11種および非発がん物質5種の合計16物質について検討した。発がん物質は、2年間のがん原性試験に用いられた投与量および経路で投与した。

大阪市立大担当分として、非遺伝毒性肝発がん物質3種: Thioacetamide (TAA; 0.5 g/kg)、11-Aminoundecanoic acid (AUDA; 15 g/kg)、di(2-Ethylhexyl)phthalate (DEHP; 12 g/kg)と、非肝発がん物質1種: Quercetin dihydrate (QDH; 50 g/kg)を摂餌投与した。

香川大学担当分として、非遺伝毒性肝発がん物質2種: Phenobarbital, sodium (PB; 500 mg/L)、1,4-Dioxane (1,4-D; 5 g/L)と、非肝発がん物質2種: Phytic acid (PhA; 2.5%)、Cyclohexanone (CHN; 6.5 g/L)を飲水投与した。

国立衛研担当分として、非遺伝毒性肝発がん物質3種: Clofibrate (CFB; 5 g/kg)、Chlorendic acid (CRA; 1.25 g/kg)、Ponceau 3R (P3R; 50 g/kg)と、非肝発がん物質1種: Caprolactam (CPL; 7.5 g/kg)を摂餌投与した。

名古屋市立大担当分として、非遺伝毒性肝発がん物質3種: Decabromodiphenyl oxide (DBDPO; 50 g/kg)、dl-Ethionine (DL-ET; 1 g/kg)、Doxylamine succinate (DOX; 2 g/kg)と、非肝発がん物質1種: Hexachlorophene (HCP; 150 mg/kg)を摂餌投与した。

肝臓からRNeasy mini kit(キアゲン)を用いてtotal RNAを抽出・精製し、GeneChip® Clariom D Assay, Rat (Rat Transcriptome Array 2.0)を用いて網羅的遺伝子発現解析を行い、被験物質ごとの遺伝子発現変化データを取得した。

得られた遺伝子発現変化のうち、以前にGeneChip® Rat Genome 230 2.0 Arrayを使用して、非遺伝毒性肝発がん物質の発がん機序ごとに選出した遺伝子を組み合わせた106遺伝子セットから、共通の遺伝子として選出可能であった103遺伝子を用いて、非遺伝毒性肝発がん物質の検出(サポートベクターマシンの

数理的アルゴリズムによるモデル)及び発がん機序に基づいた分類を行い、検出法の特異性及び感受性について検証した(現行予測モデル)。

また、新たな遺伝子セットを検討するため、以前と同様に細胞傷害(TAA, MP)や酵素誘導(PB, HCB)、PPAR $\alpha$ アゴニスト(CFB, WY)に属する化学物質2種において、共通して対照群との発現差がWelch T値が5以上となる遺伝子を選出した。次にそれぞれの属する化学物質において対照群との平均した発現差が4倍以上異なるとともに、42の非発がん物質で発現変動平均が0.5以下となる遺伝子を選出した。加えて、選出した遺伝子が、各所属化学物質の8割以上で変化するとともに、非発がん物質において2倍以上変化する物質が4つ以下となる遺伝子を選出した(新規予測モデル)。

### 2. 遺伝子セットを用いた遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法の確立(鰐淵、魏)

6週齢の雄SDラットを8群に分け、被験物質を単回強制胃内投与試験を行った。被験物質に関する情報と投与濃度は表5に示す。判定対象物質として、優先評価化学物質1種(o-phenylenediamine (OPD))、監視対象化学物質1種(Disperse Blue 134 (DB-134))を、既知の遺伝毒性肝発がん物質4種(Safrole; 2-Nitrofluorene (2-NF); 2-Aminoanthraquinone (2-AAQ); 1-Amino-2,4-dibromoanthraquinone (ADBAQ))の合計6物質を用いた。また、溶媒対照群(対照群)として0.5% Methyl cellulose (MC)投与群、および陽性対照群として2-Nitropropane (2-NP)投与群を設けた。

被験物質投与後24時間後に剖検を行った。肝臓を摘出し、RNA抽出用として、外側左葉(LL)を摘出後、下端辺縁部を約2cm $\times$ 0.5cmの大きさで2スライス切り出し、それぞれ1mLのRNAlaterが入った1.5mLチューブへ移した(合計2本)。1.5mLチューブを4 $^{\circ}$ Cで一晩保管後、-80 $^{\circ}$ Cで長期保管した。凍結保存サンプル用として、外側左葉の上半分を1.5mLチューブ2本分採取し、液体窒素により凍結後、-80 $^{\circ}$ Cで凍結保管した(1本はDNA adduct 解析用)。ホルマリン固定用サンプルとして、外側左葉の下半分、内側右葉(RM)及び右葉尾部(R2)から計3スライス切り出し、カセットに入れ10%ホルマリンにて固定した。

遺伝子発現については、リアルタイムPCR (qPCR)にてデータを取得した。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 Maste Mix(invitrogen)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の数理的アルゴリズムによるモデル)に入力し、判定を行った。

### 3. DNA アダクトーム解析による遺伝毒性評価(鰐淵、戸塚)

雄性SDラット(各群それぞれ5匹)に遺伝毒性肝発がん物質(2018年;9種、2019年;13種、計22種)、遺伝毒性非発がん物質(2018年;3種、2019年;3種、計5種)、非遺伝毒性肝発がん物質(2018年;2種、2019年;5種、計7種)、非遺伝毒性非肝発がん物質

(2018年; 16種、2019年; 8種、計24種)を投与24時間後に肝臓を摘出した。使用した化学物質は図1に示す。

2018年セット (計30化合物)	2019年セット (計28化合物)
<ul style="list-style-type: none"> <li>遺伝毒性ラット肝発がん物質 (+/+): 9種 o-Aminozotoluene (AAT), Dimethylnitrosamine (DMN), 3-Methyl-4-dimethylaminoozobenzene (MDA), 4,4'-Thiodianiline (TDA), N-Nitrosodimethylamine (NDEA), N-Nitrosodiethanolamine (NDELA), N-Nitrosoethylmethylamine (NEMA), Nitrosodibutylamine (NB), N-Nitrosopyrrolidine (NWP)</li> <li>遺伝毒性非ラット肝発がん物質 (+/+): 3種 Cyclophosphamide (CPA), Nitrofurantoin (NFT), Phenacetin (PCT)</li> <li>非遺伝毒性肝発がん物質 (+/+): 2種 Monocrotaline (MCT), Phenobarbital (PB)</li> <li>非遺伝毒性非ラット肝発がん物質 (-/-): 16種 Diazepam (DZP), Disulfiram (DSF), Phenytoin (PHE), Rotenone (ROT), Tolbutamide (TLB), Aspirin (ASA), Triamterene (TRI), Indomethacin (IM), Phenybutazone (PBZ), Promethazine (PMZ), Sulindac (SUL), Tetracycline (TCL), Ethionamide (ETH), Theophylline (TEO), Caffeine (CAF), Chloramphenicol (CMP)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>遺伝毒性ラット肝発がん物質 (+/+): 13種 4,4'-Oxydianiline (44-ODA), Auramine-O (AO), Acid Red 26 (C1-16150)(AR-26), Benzidine (BZ), Dichloroacetic Acid (DCA), Ethylene thiourea (ETU), Hydrazinium Sulfate (HS), Hydrazine (H2), 4,4'-Methylene-bis(2-chloro-aniline)(MBOCA), Nitrosoheptamethyleneimine (NHMI), Retrorsine (RTS), Tris-(1,3-dichloro-2-propyl)phosphate (TDCPP), Vinyl Bromide (VB)</li> <li>遺伝毒性非ラット肝発がん物質 (+/+): 2種 2,4-Dinitrotoluene (containing 1.0-1.5% 2,6-dinitrotoluene) (DNT), Isonicotinic Acid Hydrazide (INH)</li> <li>非遺伝毒性肝発がん物質 (+/+): 5種 Carbon Tetrachloride (CCL4), Coumarin (Coumarin), Ethynylestradiol (EE), Gemfibrozil (GFZ), Hexachlorobenzene (HCB)</li> <li>非遺伝毒性非ラット肝発がん物質 (-/-): 8種 Allyl alcohol (AA), Butylated hydroxyanisole (BHA), Chlorpheniramine (CHL), Chlorpropamide (CPP), Furosemide (FUR), Methyldopa (MDP), Methimazole (MTZ), Sulfasalazine (SS)</li> </ul>

陽性対照 2-Nitropropane (2-NP)      陰性対照 Methyl cellulose (MC)

図1 使用した化学物質

DNAを抽出後、DNaseI、ヌクレアーゼP1、アルカリホスファターゼ、ホスホジエステラーゼによりモノデオキシリボヌクレオシドに消化した後、LC-TOF MSに供しDNA付加体の網羅解析を行った。得られたデータはSCIEX社が提供するバイオインフォマティクス解析ソフトウェアを用い、デオキシリボヌクレオチドに特徴的なニュートラルロス (-116.04736)及び各種核酸に特異的なニュートラルロス (-152.0572; dG, -136.0623; dA, -112.0511; dC, -127.0508; dT)を生じたピークを選択的に抽出することで、ノイズなどを抽出しないように系をデザインした。得られたデータを線形判別分析(LDA)により解析した。

次に、得られたデータから、対照群である2-NPおよびMCを除いたデータを用いた。実際に予測モデルを使用する場合は遺伝毒性/肝発がん性の情報がない化学物質に対して実施することを想定して、Leave-One-Out交差検証により予測結果の精度評価を行った。Leave-One-Out交差検証は、ある曝露物質のデータをテスト用とし、他の曝露物質のデータを用いて学習したモデルの精度を評価することを、物質を変えながら繰り返す検証方法であり、毒性が未知の物質に対する予測を模擬した精度評価方法である。この方法を用いて、遺伝毒性、肝発がん性、遺伝毒性/肝発がん性を付加体から予測するモデルを試作した。学習アルゴリズムとしては、ランダムフォレストを使用した。

(倫理面への配慮)

各施設の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

### 1. 遺伝子セットを用いた非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法の確立(鱒淵、横平、豊田、加藤、鈴木)

各物質を4週間投与後に屠殺・剖検した際に、TAA、PBおよびPhAは、有意な体重増加抑制を認めた。特にPhAは毒性のため4週目に2匹死亡した。また、DL-ETも体重増加抑制傾向を認めたが、最終屠殺時には有意

な差は見られなかった。肝重量は、DEHP、CHN、CRA、P3R、CFBおよびDBDPO投与により、絶対および相対肝重量が有意に増加した。一方、PhAにおいては、絶対肝重量の低下を認めたが相対肝重量には変化を認めなかった。採取された肝組織について検討した結果、TAA、DEHP、PB、DBDPOにおいて肝細胞肥大や空胞変性などの変化を認めた。また、AUDA、CHN、CRA、P3R、CFBおよびDL-ETにおいても軽度ながら肝細胞肥大などの変化が存在した。

表1 非遺伝毒性肝発がん物質の判定結果

施設	投与物質	略名	投与量	発がん性	判定	成否
大阪市大	Thioacetamide	TAA	0.5g/kg diet	陽性	陽性	○
	di (2-Ethylhexyl)phthalate	DEHP	12g/kg diet	陽性	陽性	○
	11-Aminoundecanoic acid	AUDA	15g/kg diet	陽性	陰性	×
	Quercetin dihydrate	QDH	50g/kg diet	陰性	陰性	○
	香川大学	1,4-Dioxane	1,4-D	5g/L drink	陽性	陰性
Phenobarbital, sodium		PB	0.5g/L drink	陽性	陰性	×
Phytic acid		PhA	25g/L drink	陰性	陰性	×
Cyclohexanone		CHN	6.5g/L drink	陰性	陰性	○
国立衛研		Chlorendic acid	CRA	1.25g/kg diet	陽性	陰性
	Ponceau 3R	P3R	50g/kg diet	陽性	陰性	×
	Clofibrate	CFB	5g/kg diet	陽性	陽性	○
	Caprolactam	CPL	7.5g/kg diet	陰性	陰性	○
名市大	Decabromodiphenyl oxide	DBDPO	50g/kg diet	陽性	陰性	×
	dl-Ethionine	DL-ET	1g/kg diet	陽性	陰性	×
	Doxylamine succinate	DOX	2g/kg diet	陽性	陰性	×
	Hexachlorophene	HCP	0.15g/kg diet	陰性	陰性	○

マイクロアレイ解析により対照群との遺伝子発現変化を確認し、非遺伝毒性肝発がん物質の発がん機序ごとに選出した遺伝子を組み合わせた103遺伝子セットを用いて、非遺伝毒性肝発がん物質の検出を行った。結果、11の非遺伝毒性肝発がん物質うち、TAA、DEHPおよびCFBについては、発がん物質と判定されたものの、他の8物質は陰性と判定された。一方、5つの非発がん物質はいずれも陰性と判定された(表1)。

予測モデルの作成時の結果、感度73%(11/15物質)、特異度100%(42/42)に今回の結果を加えると、感度54%(14/26)、特異度100%(47/47)で、正答率が84%(61/73)となった。遺伝子セットを用いた主成分解析では、陽性判定されたTAAは細胞障害に、DEHPおよびCFBはPPAR $\alpha$ アゴニストに属することが確認出来た(図2)。

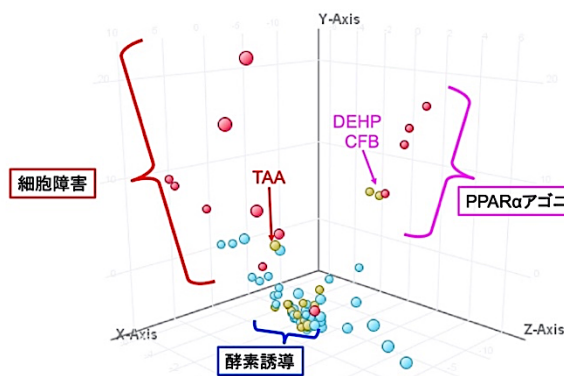


図2 遺伝子セットを用いた主成分解析

そこで、モデル解析に用いる遺伝子について再選定し、予測率の改善を試みた。細胞障害 (TAA, MP) から4遺伝子、酵素誘導 (PB, HCB) から3遺伝子、PPAR $\alpha$ アゴニスト (CFB, WY) から8遺伝子が選出され、酵素誘導とPPAR $\alpha$ アゴニストに共通の遺伝子が1つ存在したことから、合計14遺伝子からなるセットが作成された。その14遺伝子を用いて、新規予測モデルを再作成して検討した結果、感度80%(12/15物質)、特異度98%(41/42)が得られ、今回検討した新規化学物質においても感度45%(5/11物質)、特異度100%(5/5)と改善された(表2)。これらの結果をまとめると、感度65%(17/26物質)、特異度98%(46/47)で、正答率が86%(63/73)となった。

表2 非遺伝毒性肝発がん物質の判定結果 (新規予測モデル)

施設	投与物質	略名	投与量	発がん性	判定	成否
大阪市大	Thioacetamide	TAA	0.5g/kg diet	陽性	陽性	○
	di(2-Ethylhexyl)phthalate	DEHP	12g/kg diet	陽性	陽性	○
	11-Aminoundecanoic acid	AUDA	15g/kg diet	陽性	陰性	×
	Quercetin dihydrate	QDH	50g/kg diet	陰性	陰性	○
香川大学	1,4-Dioxane	1,4-D	5g/L drink	陽性	陰性	×
	Phenobarbital, sodium	PB	0.5g/L drink	陽性	陽性	○
	Phytic acid	PhA	25g/L drink	陰性	陰性	×
	Cyclohexanone	CHN	6.5g/L drink	陰性	陰性	○
国立衛研	Chlorendic acid	CRA	1.25g/kg diet	陽性	陽性	○
	Ponceau 3R	P3R	50g/kg diet	陽性	陰性	×
	Clofibrate	CFB	5g/kg diet	陽性	陽性	○
	Caprolactam	CPL	7.5g/kg diet	陰性	陰性	○
名市大	Decabromodiphenyl oxide	DBDPO	50g/kg diet	陽性	陰性	×
	dl-Ethionine	DL-ET	1g/kg diet	陽性	陰性	×
	Doxylamine succinate	DOX	2g/kg diet	陽性	陰性	×
	Hexachlorophene	HCP	0.15g/kg diet	陰性	陰性	○

## 2. 遺伝子セットを用いた遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法の確立 (鰐淵、魏)

2-NP (陽性対照群) で1例が死亡した。2-NP、2-NF 群および2-AAQ 群で対照群に比較して有意な体重増加抑制が認められた。また、2-NP および OPD 群で、絶対肝重量および相対肝重量の有意な減少が認められた。DB-134 群では、相対肝重量の有意な減少が認められたが、絶対肝重量に有意な変化はみられなかった。同群では体重が増加傾向を示したことから、相対肝重量の減少は体重増加に伴ったものである可能性が示唆された。2-AAQ 群で絶対肝重量の有意な減少が認められたが、相対肝重量に有意な変化はみられなかった。これには同群での体重減少が関連する可能性があると考えられた。

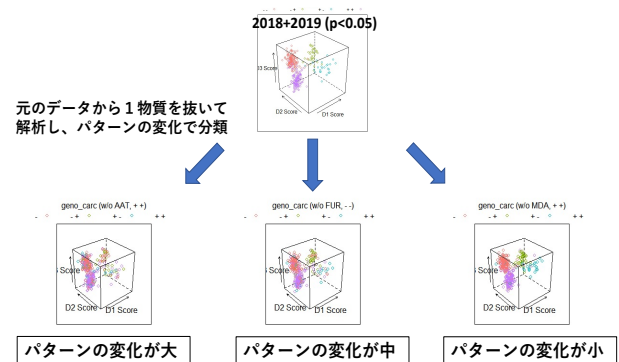
病理組織学的には、2-NP 群および Safrole 群で肝細胞壊死および脂肪変性が認められた。2-NF 群では小葉中心性両染色性変化が見られた。OPD 群、DB-134 群、ADBAQ 群では明らかな病理学的変化はみられなかった。

qPCR で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(表3)。本モデルでは、遺伝毒性ラット肝発がん物質を「陽性」、その他の物質を「陰性」と判定する。その結果、「陽性」と判定されたものは、遺伝毒性肝発がん物質である2物質(2-NF, 2-AAQ)であった。しかし、それ以外の3遺伝毒性肝物質は「陰性」と判定された。遺伝毒性陽性で発がん性不明であるDB-134は「陰性」と判定された。

表3 遺伝毒性肝発がん物質短期検出モデルの有用性の検証結果

投与物質	分類	LD50 (mg/kg)	投与量 (mg/kg)	判定	正否
0.5% Methyl cellulose (MC)	溶媒 (陰性対照物質)				
2-Nitropropane (2-NP)	遺伝毒性陽性肝発がん物質 (陽性対照物質)	720	240#	陽性	○
o-phenylenediamine (OPD) 優先評価化学物質	遺伝毒性陽性肝発がん物質	510	170#	陰性	×
Disperse Blue 134 (DB-134) 監視対象化学物質	遺伝毒性陽性「発がん性不明」	「不明」	1000*	陰性	
Safrole	遺伝毒性陽性肝発がん物質	1950	650#	陰性	×
2-Nitrofluorene (2-NF)	遺伝毒性陽性肝発がん物質	「不明」	1000*	陽性	○
2-Aminoanthraquinone (2-AAQ)	遺伝毒性陽性肝発がん物質	>3200	1000*	陽性	○
1-Amino-2,4-dibromoanthraquinone (ADBAQ)	遺伝毒性陽性肝発がん物質	「不明」	1000*	陰性	×

# LD50の1/3に相当する用量。  
\*入手可能な情報に参考にして、1日単回投与試験での致死量は1000 mg/kgより低い可能性が高いと推定した。



被験物質	パターン変化		
	大きい	中程度	小さい
2018年度曝露物質	9	2	19
2019年度曝露物質	14	7	7
計	23	9	26

- 2018年度は「変化が小さい」ものが多いが、2019年度は「変化が大きい」ものが多いことがわかった。
- 言い換えると2018年度に使用した被験物質は互いに類似した特徴を持っており、2019年度は互いに異なる特徴をもつ物質によって構成されていることが示唆される。
- 2018データと2019データの正答率の違いは、このような被験物質のもつ特徴に起因する可能性が考えられた。

図3 遺伝毒性肝発がん物質/遺伝毒性非肝発がん物質/非遺伝毒性肝発がん物質/非遺伝毒性非肝発がん物質の肝臓におけるDNA損傷性の評価(LDA解析による)

## 3. DNA アダクトーム解析による遺伝毒性評価 (鰐淵、戸塚)

各種化学物質を投与したラット肝臓DNAのアダクトーム解析を行なった結果を図2に示す。LDA解析を行なったところ、2018データセット単独、2019データセット単独、及び2018+2019データセットのいずれにおいても、非遺伝毒性非肝発がん物質、遺伝毒性非肝発がん物質、非遺伝毒性肝発がん物質、遺伝毒性肝発がん物質の4つのグループに綺麗に分離されることがわかった(図3)。

2018+2019統合データセットから1被験物質を除いてLDA解析を行ない、そのパターンの変化の大・中・小で分類を行なってみたところ、2019年に試験した被験物質に変化の大きなものが多数存在することがわかった(図4)。

Leave-One-Out交差検証により化学物質の遺伝毒性/発がん性を予測するモデルを機械学習手法(ランダムフォレストを使用)を用いて試作した。試作された遺伝毒性/発がん性予測モデルを用いて2018+2019統合データセットに対して予測を行ったところ、遺伝毒性/肝発がん性の予測結果は49%、遺伝毒性の予測結果が50%、肝発がん性の予測結果は65%と2018年データセット単独の結



果と比べ正答率が低くなった（表4）。これは2019年データセットでの正答率が極端に低いことが大きく影響していると考えられた。

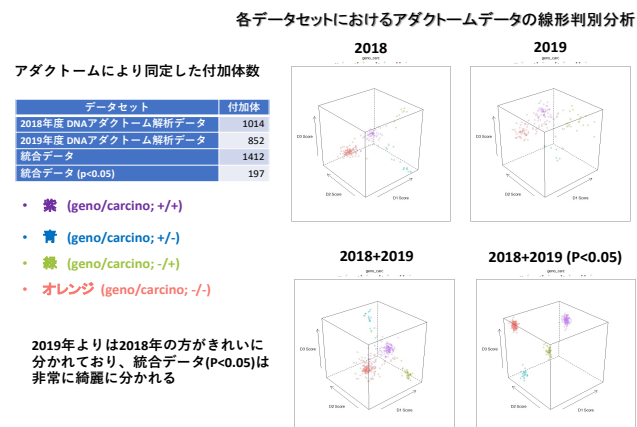


図4 2018+2019統合データセットから1被験物質を除いたLDA解析

表4 遺伝毒性の予測結果の比較

データセット	Geno/Carcino 正解率 (%)	Geno 正解率 (%)	Carcino 正解率 (%)
2018	88	88	94
2019	38	41	60
2018+2019	49	50	65

#### D. 考察

今回の非遺伝毒性肝発がん物質の検出法開発に用いた化学物質は、2年間のがん原性試験で用いた投与量を用いて検討した。PhAについては文献的に用いられている濃度を用いたものの、体重増加抑制傾向強く4週間投与時に死亡症例も出たことから、より低い濃度での投与が望まれる。一方で、陽性対照群として用意したPB投与群では、がん原性試験で用いた投与濃度 0.5 g/L 飲水投与では、一日体重あたり平均 43.3 mg/kg しか投与されておらず、強制胃内投与で行われたトキシコゲノミクスプロジェクトで発がん性として扱った 100 mg/kg に比べ半分以下と低いため、判定が陰性となった。

新規に検討した化学物質において、特異度は100%と高かったものの、感度は27%と低い結果となった。以前より、特異度に対して感度がやや低い傾向があり、今回の結果はその傾向が強く反映した結果となった。以前の成果と合わせて、特異度 100%(47/47)で、正答率は84%(61/73)と高いものの、感度 54%(14/26)については、改善が必要である。

その改善策として、遺伝子選定方法を変更した結果、今回検討した新規化学物質において、感度 45%(5/11 物質)、特異度 100%(5/5)と改善された。既存の化学物質の判定についても、特異度 98%(41/42)はわずかに低下したものの、感度 80%(12/15 物質)と以前よりも感度が高い検出法が確立された。これらの結果をまとめると、感度 65%(17/26 物質)、特異度 98%(46/47)で、正答率が86%(63/73)となった。今後は、本年度に判定が異なった物質の、投与濃度や投与方法の改善や、遺伝子選定を含めた予測モデルの改善を検討する予定である。

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法の有用性の検証では、「優先評価化

学物質」OPD を含めたそれ以外の3遺伝毒性肝発がん物質は「陰性」と判定された。遺伝毒性陽性で発がん性不明の「監視化学物質」DB-134は「陰性」と判定された。今後、検出精度を確認するに、偽陰性物質については投与量を増やして再評価する必要がある。これまでに検討した69物質に対して、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83%(24/29)、特異度95%(38/40)正答率90%(62/69)の高い精度で検出できる可能性が示唆された。なお、これまでに2-NF、DB-134及びADBAQのラットにおける経口LD50に関する報告はなかったが、本試験では、いずれの投与群においても死亡例がみられなかったことから、これらの物質のLD50は1000 mg/kg以上であることが明らかになった。GSH分類においては経口急性毒性区分4以上に該当することが示唆された。

HRAM-アダクトームを用いてDNA付加体の網羅解析を行ないLDA解析を行った結果、遺伝毒性肝発がん物質、非遺伝毒性肝発がん物質、遺伝毒性非肝発がん物質、非遺伝毒性非肝発がん物質の4つのグループに分離できた。

これらデータを用いてLeave-One-Out交差検証を適用した毒性予測モデルの予測精度評価を実施したところ、50~65%の正答率となり、2018データセットを単独で用いた場合(88~94%)と比較して精度が低下することがわかった。この結果は、2019年データセット単独での低い正答率が影響していると推測された。2018+2019統合データセットから1被験物質を除いてLDA解析を行ない、そのパターンの変化の大・中・小で分類を行なってみたところ、2019年に試験した被験物質に変化の大きなものが多数存在することがわかった。このことは、2018年度に使用した被験物質は互いに類似した特徴を持っており、2019年度は互いに異なる特徴をもつ物質によって構成されていることが示唆される。2018データと2019データの正答率の違いは、このような被験物質のもつ特徴に起因する可能性が考えられた。今後は、2018+2019統合データセットの正答率向上について更に検討を行う。また、各グループの予測に重要な付加体の探索やアダクトームデータに化学物質構造データを追加するなど予測精度の向上についても検討する。

#### E. 結論

我々が構築した遺伝子セットを用いた非遺伝毒性肝発がん物質短期検出法は、非遺伝毒性肝発がん物質を高い精度で検出できる可能性が示唆された。施設間で共通の試験法を行う事で、標準化された試験法確立を目指すとともに、今後も本検出法の限界についての検証を引き続き行う必要がある。

我々が遺伝子セットを用いた遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法は、遺伝毒性肝発がん物質を高い精度で検出できる可能性が示唆された。今後も本検出法の限界についての検証を引き続き行う必要がある。

DNA アダクトーム解析を用いて化学物質のDNA損傷を指標とした化学物質の肝発がん性・遺伝毒性への分類、遺伝毒性および肝発がん性の予測が可能となる結果を示した。予測精度については化学物質数を増やし

た際に低下しており、より改善したモデル構築を行う予定である。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Suzuki S, Cohen SM, Arnold LL, Pennington KL, Gi M, Kato H, Naiki T, Naiki-Ito A, Wanibuchi H, Takahashi S. Cell proliferation of rat bladder urothelium induced by nicotine is suppressed by the NADPH oxidase inhibitor, apocynin. *Toxicol Lett.* 2021; 336: 32-8.
- 2) Kakehashi A, Chariyakornkul A, Suzuki S, Khuanphram N, Tatsumi K, Yamano S, Fujioka M, Gi M, Wongpoomchai R, Wanibuchi H. Cache Domain Containing 1 Is a Novel Marker of Non-Alcoholic Steatohepatitis-Associated Hepatocarcinogenesis. *Cancers (Basel)*. 2021; 13.
- 3) Mori T, Tanaka H, Suzuki S, Deguchi S, Yamakoshi Y, Yoshii M, Miki Y, Tamura T, Toyokawa T, Lee S, Muguruma K, Wanibuchi H, Ohira M. Tertiary lymphoid structures show infiltration of effective tumor-resident T cells in gastric cancer. *Cancer Sci.* 2021; 112: 1746-57.
- 4) Nagano-Matsuo A, Inoue S, Koshino A, Ota A, Nakao K, Komura M, Kato H, Naiki-Ito A, Watanabe K, Nagayasu Y, Hosokawa Y, Takiguchi S, Kasugai K, Kasai K, Inaguma S, Takahashi S. PBK expression predicts favorable survival in colorectal cancer patients. *Virchows Arch.* 2021. (In press; DOI: 10.1007/s00428-021-03062-0)
- 5) Yamada T, Toyoda T, Matsushita K, Cho YM, Akagi JI, 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 gamma-H2AX. *Arch Toxicol.* 2021; 95: 715-26.
- 6) Yamada T, Toyoda T, Ide T, Matsushita K, Morikawa T, Ogawa K. Neuromuscular and vascular hamartoma of the small intestine in an F344 rat. *J Toxicol Pathol.* 2021; 34: 113-7.
- 7) Tsuda H, Yoshida M, Akiyama F, Ohi Y, Kinowaki K, Kumaki N, Kondo Y, Saito A, Sasaki E, Nishimura R, Fujii S, Homma K, Horii R, Murata Y, Itami M, Kajita S, Kato H, Kurosumi M, Sakatani T, Shimizu S, Taniguchi K, Tamiya S, Nakamura H, Kanbayashi C, Shien T, Iwata H. Nuclear grade and comedo necrosis of ductal carcinoma in situ as histopathological eligible criteria for the Japan Clinical Oncology Group 1505 trial: an interobserver agreement study. *Jpn J Clin Oncol.* 2021; 51: 434-43.
- 8) Totsuka Y, Watanabe M, Lin Y. New horizons of DNA adductome for exploring environmental causes of cancer. *Cancer Sci.* 2021; 112: 7-15.
- 9) Matsuyama N, Naiki T, Naiki-Ito A, Chaya R, Kawai T, Etani T, Nagai T, Kato H, Kubota Y, Yasui T. Novel case of androgen receptor-positive cancer of unknown primary without serum prostate-specific antigen elevation that became progression free in the long term after primary combined androgen blockade. *IJU Case Rep.* 2021; 4: 59-63.
- 10) Matsushita K, Toyoda T, Yamada T, Morikawa T, Ogawa K. Specific expression of survivin, SOX9, and CD44 in renal tubules in adaptive and maladaptive repair processes after acute kidney injury in rats. *Journal of applied toxicology.* 2021; 41: 607-17.
- 11) 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, Jantarabenjakul W, Paitoonpong L, Handley FG, Bernabe KG, 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.* 2021; 555: 71-7.
- 12) Kato H, Naiki-Ito A, Suzuki S, Inaguma S, Komura M, Nakao K, Naiki T, Kachi K, Kato A, Matsuo Y, Takahashi S. DPYD, down-regulated by the potentially chemopreventive agent luteolin, interacts with STAT3 in pancreatic cancer. *Carcinogenesis.* 2021. (In press; DOI: 10.1093/carcin/bgab017)
- 13) Nishikawa S, Uemoto Y, Kim TS, Hisada T, Kondo N, Wanifuchi-Endo Y, Fujita T, Asano T, Katagiri Y, Terada M, Kato A, Dong Y, Sugiura H, Okuda K, Kato H, Osaga S, Takahashi S, Toyama T. Low RAI2 expression is a marker of poor prognosis in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2021; 187: 81-93.
- 14) Totsuka Y, Maesako Y, Ono H, Nagai M, Kato M, Gi M, Wanibuchi H, Fukushima S, Shiizaki K, 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.* 2020; 96: 180-7.
- 15) Takeyama Y, Kato M, Tamada S, Azuma Y, Shimizu Y, Iguchi T, Yamasaki T, Gi M, Wanibuchi H, Nakatani T. Myeloid-derived suppressor cells are essential partners for immune checkpoint inhibitors in the treatment of cisplatin-

- resistant bladder cancer. *Cancer Lett.* 2020; 479: 89–99.
- 16) Suzuki S, Gi M, Toyoda T, Kato H, Naiki-Ito A, Kakehashi A, Ogawa K, Takahashi S, Wanibuchi H. Role of gamma-H2AX as a biomarker for detection of bladder carcinogens in F344 rats. *J Toxicol Pathol.* 2020; 33: 279–85.
  - 17) Sakai A, Tagami M, Kakehashi A, Katsuyama-Yoshikawa A, Misawa N, Wanibuchi H, Azumi A, Honda S. Expression, intracellular localization, and mutation of EGFR in conjunctival squamous cell carcinoma and the association with prognosis and treatment. *PLoS One.* 2020; 15: e0238120.
  - 18) Kakehashi A, Suzuki S, Ishii N, Okuno T, Kuwae Y, Fujioka M, Gi M, Stefanov V, Wanibuchi H. Accumulation of 8-hydroxydeoxyguanosine, L-arginine and Glucose Metabolites by Liver Tumor Cells Are the Important Characteristic Features of Metabolic Syndrome and Non-Alcoholic Steatohepatitis-Associated Hepatocarcinogenesis. *Int J Mol Sci.* 2020; 21.
  - 19) 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.
  - 20) Yokohira M, Hashimoto N, Yamakawa K, Nakano-Narusawa Y, Matsuda Y, Imaida K. Lung proliferative lesion-promoting effects of left pulmonary ligation in A/J female mice. *Pathol Int.* 2020; 70: 340–7.
  - 21) Yeewa R, Naiki-Ito A, Naiki T, Kato H, Suzuki S, Chewonarin T, Takahashi S. Hexane Insoluble Fraction from Purple Rice Extract Retards Carcinogenesis and Castration-Resistant Cancer Growth of Prostate Through Suppression of Androgen Receptor Mediated Cell Proliferation and Metabolism. *Nutrients.* 2020; 12.
  - 22) Uemoto Y, Kondo N, Wanifuchi-Endo Y, Asano T, Hisada T, Nishikawa S, Katagiri Y, Terada M, Kato A, Okuda K, Sugiura H, Kato H, Takahashi S, Toyama T. Sentinel lymph node biopsy may be unnecessary for ductal carcinoma in situ of the breast that is small and diagnosed by preoperative biopsy. *Jpn J Clin Oncol.* 2020; 50: 1364–9.
  - 23) Suzuki S, Cohen SM, Arnold LL, Pennington KL, Kato H, Naiki T, Naiki-Ito A, Yamashita Y, Takahashi S. Cotinine, a major nicotine metabolite, induces cell proliferation on urothelium in vitro and in vivo. *Toxicology.* 2020; 429: 152325.
  - 24) Nozaki S, Naiki T, Naiki-Ito A, Iwatsuki S, Takeda T, Etani T, Nagai T, Iida K, Kato H, Suzuki T, Takahashi S, Umamoto Y, Yasui T. Selective lysine-specific demethylase 1 inhibitor, NCL1, could cause testicular toxicity via the regulation of apoptosis. *Andrology.* 2020; 8: 1895–906.
  - 25) Nakano-Narusawa Y, Yokohira M, Yamakawa K, Saoo K, Imaida K, Matsuda Y. Single Intratracheal Quartz Instillation Induced Chronic Inflammation and Tumourigenesis in Rat Lungs. *Sci Rep.* 2020; 10: 6647.
  - 26) Nakanishi H, Sawada T, Kaizaki Y, Ota R, Suzuki H, Yamamoto E, Aoki H, Eizuka M, Hasatani K, Takahashi N, Inagaki S, Ebi M, Kato H, Kubota E, Kataoka H, Takahashi S, Tokino T, Minamoto T, Sugai T, Sasaki Y. Significance of gene mutations in the Wnt signaling pathway in traditional serrated adenomas of the colon and rectum. *PLoS One.* 2020; 15: e0229262.
  - 27) Naiki-Ito A, Naiki T, Kato H, Iida K, Etani T, Nagayasu Y, Suzuki S, Yamashita Y, Inaguma S, Onishi M, Tanaka Y, Yasui T, Takahashi S. Recruitment of miR-8080 by luteolin inhibits androgen receptor splice variant 7 expression in castration-resistant prostate cancer. *Carcinogenesis.* 2020; 41: 1145–57.
  - 28) Naiki-Ito A, Kato H, Naiki T, Yeewa R, Aoyama Y, Nagayasu Y, Suzuki S, Inaguma S, Takahashi S. A novel model of non-alcoholic steatohepatitis with fibrosis and carcinogenesis in connexin 32 dominant-negative transgenic rats. *Arch Toxicol.* 2020; 94: 4085–97.
  - 29) 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.* 2020; 41: 368–76.
  - 30) Mapoung S, Suzuki S, Fuji S, Naiki-Ito A, Kato H, Yodkeeree S, Sakorn N, Ovatlarnporn C, Takahashi S, Limtrakul Dejkriengkraikul P. Dehydrozingerone, a Curcumin Analog, as a Potential Anti-Prostate Cancer Inhibitor In Vitro and In Vivo. *Molecules.* 2020; 25.
  - 31) Kishi S, Yamakawa K, Nakano-Narusawa Y, Kanie S, Hashimoto N, Saoo K, Yokohira M, Imaida K, Matsuda Y. Preexisting diabetes mellitus had no effect on the no-observed-adverse-effect-level of acetaminophen in rats. *J Toxicol Sci.* 2020; 45: 151–62.

- 32) 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.* 2020; 42: 16.
- 33) Kato T, Matsuo Y, Ueda G, Aoyama Y, Omi K, Hayashi Y, Imafuji H, Saito K, Tsuboi K, Morimoto M, Ogawa R, Takahashi H, Kato H, Yoshida M, Naitoh I, Hayashi K, Takahashi S, Takiguchi S. Epithelial cyst arising in an intrapancreatic accessory spleen: a case report of robotic surgery and review of minimally invasive treatment. *BMC Surg.* 2020; 20: 263.
- 34) Kato H, Naiki-Ito A, Yamada T, Suzuki S, Yamashita Y, Inaguma S, Kondo N, Wanifuchi-Endo Y, Toyama T, Takahashi S. The standard form of CD44 as a marker for invasion of encapsulated papillary carcinoma of the breast. *Pathol Int.* 2020; 70: 835-43.
- 35) Iida K, Naiki T, Naiki-Ito A, Suzuki S, Kato H, Nozaki S, Nagai T, Etani T, Nagayasu Y, Ando R, Kawai N, Yasui T, Takahashi S. Luteolin suppresses bladder cancer growth via regulation of mechanistic target of rapamycin pathway. *Cancer Sci.* 2020; 111: 1165-79.
2. 学会発表
- 1) 鰐渕英機、魏民。職業曝露によるがん発生の要因解明と予防研究への展開。第 27 回がん予防学会総会。Web 開催 (2020 年 9 月)
- 2) 鈴木周五、加藤寛之、内木綾、鰐渕英機、高橋智。NADPH oxidase 阻害剤 apocynin によるニコチン誘発ラット膀胱増殖性病変抑制効果。第 109 回日本病理学会総会、Web 開催 (2020 年 8 月)
- 3) 鈴木周五、加藤寛之、内木綾、魏民、鰐渕英機、高橋智。ラット膀胱尿路上皮のニコチンによる増殖は NADPH oxidase 阻害剤 apocynin により抑制される。第 79 回日本癌学会学術総会、Web 開催 (2020 年 10 月)
- 4) 魏民、鈴木周五、行松直、梯アンナ、鰐渕英機。芳香族アミン acetoaceto-*o*-toluidide のラット膀胱発がん性とその機序解明。第 93 回産業衛生学会、Web 開催 (2020 年 4 月)
- 5) 魏民、行松直、鈴木周五、梯アンナ、鰐渕英機。ラットにおける acetoaceto-*o*-toluidide の膀胱発がん促進作用。第 47 回日本毒性学会学術年会、Web 開催 (2020 年 6 月)
- 6) Gi Min, Suzuki Shugo, Kakehashi Anna, Matsue Taisuke, Wanibuchi Hideki. Aberrant histone H3K9 methylation in lung carcinogenesis induced by transplacental organic arsenical exposure in mice. 第 79 回日本癌学会学術総会、Web 開催 (2020 年 10 月)
- 7) 梯アンナ、鈴木周五、魏民、鰐渕英機。NASH 肝発がんにおける特異的候補分子および新規マーカーとして CACHD1 の役割。第 79 回日本癌学会学術総会、広島、Web 開催 (2020 年 10 月)
- 8) 鰐渕英機。日本毒性病理学会のグローバル戦略。第 37 回日本毒性病理学会総会、Web 開催 (2021 年 1 月)
- 9) 鈴木周五、加藤寛之、内木綾、魏民、鰐渕英機、高橋智。NADPH oxidase 阻害剤 apocynin によるニコチン誘発ラット膀胱増殖性病変抑制効果。第 37 回日本毒性病理学会総会、Web 開催 (2021 年 1 月)
- 10) 魏民、鈴木周五、藤岡正喜、梯アンナ、鰐渕英機。化審法に有用な新規化学物質の肝発がん性評価スキームの創出。第 37 回日本毒性病理学会総会、Web 開催 (2021 年 1 月)
- 11) 梯アンナ、鈴木周五、藤岡正喜、魏民、鰐渕英機。マウス肝発がんにおける新規マーカーとして canopy homolog 2 の解明。第 37 回日本毒性病理学会総会、Web 開催 (2021 年 1 月)
- 12) 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  $\gamma$ -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)
- 13) 豊田武士、小川久美子。ラット膀胱粘膜における  $\gamma$ -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、広島県、(2020 年 10 月)
- 14) 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)
- 15) 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)
- 16) 山田貴宣、原田賢吾、豊田武士、小川久美子、中山千里、田川義章、奥山学。SD ラットに認められた真正半陰陽の一例。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)
- 17) 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における CD44 の役割。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)
- 18) 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、靄島由二。RNA アプタマーを利用した組織再生を促進する新規機能性医用材料の創製に関する研究。第 58 回日本人工臓器学会大会、高知県、(2020 年 11 月)
- 19) 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  $\gamma$ -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、広島県、(2020 年 10 月)
- 20) 松下幸平、豊田武士、山田貴宣、森川朋美、小川久美子。腎虚血再灌流障害モデルラットを用いた急性腎障害から慢性腎臓病への進展メカニズムの解明。第 163 回日本獣医学会学術集会、Web 開催、



(2020年9月)

- 21) 松下幸平、豊田武士、山田貴宣、森川朋美、小川久美子.mRNA-microRNA 統合解析を用いた腎代償性メカニズムの包括的解析. 第47回日本毒性学会学術年会、Web開催、(2020年6月)
- 22) 加藤寛之、内木綾、鈴木周五、高橋智. エラグ酸の膵発癌抑制効果と膵癌におけるレジスチンの効果の検討. 第37回日本毒性病理学会総会及び学術集会、浜松(2021年1月)
- 23) Kato H, Naiki-Ito A, Komura M, Inaguma S, Takahashi S. Ellagic acid prevents pancreatic carcinogenesis in hamster model. The 79th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. Hiroshima (2020.10)
- 24) 加藤寛之、内木綾、鈴木周五、山下依子、稲熊真悟、高橋 智. Luteolin は STAT3 経路と DPD 発現を低下させ膵発癌を抑制する. 第109回日本病理学会総会、福岡(2020年4月)
- 25) 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)
- 26) 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)
- 27) 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)
- 28) 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)
- 29) 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)
- 30) 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)
- 31) 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