

令和4年度 厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）
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から発がんに至る毒性評価
スキーム確立に向けた基盤的研究

研究代表者 杉山 圭一 国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部

研究要旨

本研究では、遺伝毒性と発がん性の観点から香料の安全性を *in silico*、*in vitro* そして *in vivo* で階層的に評価するスキームの開発に主眼に置き、その成果が同化学物質の効率的且つ信頼性の高い安全性評価の推進に資する新規な遺伝毒性・発がん性の包括的評価法の開発を目的とする。

これまでAmes試験が実施されているフラン骨格を有する香料12物質と香料には登録されていないが類似の香料様6物質に対するQSAR解析に加えて、令和4年度はカルボニル基とフラン骨格を有する香料様3物質のAmes実試験による検証を実施した。ジケトンなどカルボニル基を含有部分や互変異性体で変化する構造に注目した考察を行うことで、QSARの予測精度に影響する知見が得られた。チミジンキナーゼ（TK）遺伝子突然変異試験をプラットフォームとして、エピジェネティックな変化を定量可能な新規試験法の検出能・定量性の評価を行った。TK遺伝子をレポーターとした試験細胞株LmTK6を用いて、被験物質としてGSK-3484862、およびRG108のエピジェネティック作用を解析した。Alizarin類縁体のEmodinを用いてエピジェネティック変異原検出系FLO assayを行い、Alizarin同様の結果が得られた。個別指定香料を除いた18類香料について年間使用量に関する情報を精査し、分類ごとの使用実態を明らかにした。4-メチル-2-ペンテナール（MP）のAmes試験結果は、非代謝活性化条件下で強い陽性（比活性1340）、代謝活性化条件下でも明確に陽性（比活性728）である。一方、TK6試験を用いると全く異なった結果であり、MPは非代謝活性化条件下で陰性、代謝活性化条件下で弱い陽性であった。最近、MPのトランスジェニックマウス（MutaMouse）を用いる遺伝子突然変異誘発性は陰性と報告された（国立医薬品食品衛生研究所；令和4年度指定添加物の安全性の見直しに関する調査研究（令和5年3月））。この*in vivo*試験の陰性結果は、Ames試験結果よりTK6試験結果と類似した。階層的評価における*in vivo*評価系として、肝遺伝毒性・発がん性中期包括試験法（GPGモデル）の有用性を検討するため、本法を用いて*in silico*及び*in vitro*で遺伝毒性が明らかになった6-methoxyquinoline（6-MQ）を評価した。その結果、6-MQ投与群のレポーター伝子突然変異頻度に有意な変化は認められなかった。なお、quinolineを投与した陽性対照群ではレポーター伝子突然変異頻度の有意な上昇が認められ、8-hydroxyquinolineを投与した陰性対照群では有意な変化はみられなかった。今後、本モデルの発がん性評価を実施し*in vivo*評価系としての有用性を考察する。本研究では、香料の毒性評価スキームにおける*in vivo*試験として、*gpt delta*ラットを用いた一般毒性・遺伝毒性・発がん性包括試験の有用性を検討するため、本法を用いた2-isopropyl-N-2,3-trimethylbutyramide（ITB）の包括的評価を実施した。令和3年度に

引き続き一般毒性評価を実施した結果、病理組織学的検索において肝細胞の空胞化を50 mg/kg群から認めた。腎臓に変化は認められなかったものの、血中Cl⁻の低値ならびに腎重量の増加は低用量群から認められ、本試験においてNOAELは求まらなかった。ITBの毒性標的の一つである肝臓についてレポーター遺伝子変異原性試験を実施した結果、変異体頻度の変化は認められず、肝臓の遺伝毒性評価は陰性と判断した。今後、腎臓の遺伝毒性評価及び肝発がん性評価を実施する。

研究分担者

| | |
|-------|---------------------------------------|
| 本間正充 | 国立医薬品食品衛生研究所 副所長 |
| 安井 学 | 国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部 室長 |
| 古濱彩子 | 国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部 主任研究官 |
| 石井雄二 | 国立医薬品食品衛生研究所 病理部 室長 |
| 高須伸二 | 国立医薬品食品衛生研究所 病理部 主任研究官 |
| 小川久美子 | 国立医薬品食品衛生研究所 病理部 部長 |
| 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 |

性試験を実施することで、安全性評価に資するデータの提供を図る。本研究ではさらに、近年新たなリスクとしてその毒性評価方法の確立が望まれているゲノムクロマチン構造のかく乱を起因とする毒性、いわゆるエピジェネティックな毒性の検出方法の開発にも取り組む。ゲノム不安定性を惹起し発がん促進に関与することが示唆されるエピジェネティックなかく乱作用は、香料を含む食品添加物など化学物質による発がん予測の精緻化に寄与すると考えられ、すでに申請者が構築済みの酵母凝集性を指標としたアッセイ系（FLO assay）の活用は本研究の独自性と新規性をさらに高めるものである。最終的には、OECDが提唱する「化学物質と生体の相互作用から個体での毒性発現までのメカニズムを関連づけて説明する手法（Adverse Outcome Pathway； AOP）」を取り入れた効率的でかつ標準化に資する新規な遺伝毒性・発がん性包括試験法の開発を目指す。

本研究班は上記の目的を達成するため、以下の研究に取り組んだ。

A. 研究目的

本研究では、近年開発が進む Ames 変異原性を予測する定量的構造活性相関(QSAR)モデル (Ames/QSAR)、Ames 実試験さらにはその他各種遺伝毒性試験、また発がん性短期包括試験法を階層的に組み合わせることにより、ヒト健康影響において重要なリスクファクターとされる遺伝毒性及び発がん性を効率的に評価するスキームの確立に向けた基盤研究を推進する。特に、発がん性については遺伝毒性の疑いなどから国際的にも追加の毒性情報が求められている被験物質、もしくは *in silico*、*in vitro* で遺伝毒性が疑われた物質について包括的毒

A-1. エピジェネティックな影響を含むファーストスクリーニング系としての遺伝毒性評価スキーム確立に向けた基盤研究（古濱、佐々、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ある。Ames 試験はその中心を担っている一方で、Ames 予測のための QSAR モデルの活用が進んでいることから、香料等における Ames/QSAR の活用スキーム提案に資する研究を行う。また、新たな遺伝毒性研究の

別添 3

分野としてゲノムのエピジェネティックな変化を介し発がんが促進されることも明らかにされつつあり、香料等の食品添加物によるゲノム不安定性からの発がん予測としての新たな *in vitro* 試験系の構築も待たれている。そこで、*in vitro* 遺伝子突然変異試験をプラットフォームとして、哺乳類細胞および酵母を活用したエピジェネティックな変化を検出定量する新規試験法の構築も検討する。また、優先的に遺伝毒性評価することが望ましいと考えられる香料を選定するための基盤構築も開始した。

A-2. 細胞を用いた *in vitro* 遺伝毒性試験による遺伝毒性評価の精緻化 (安井、本間、杉山) :

前年度で、MP の非代謝活性化条件下において、Ames 実試験で強い陽性 (比活性 1340 revertants/mg) を示す (Honma et al., *Genes and Environ.* 42:32 (2020)) にも関わらず、TK6 試験では陰性だったことから、その強い陽性は、細菌特異的な代謝反応が原因ではないかと予想された。本年度は、Ames/QSAR 予測で陽性、および Ames 実試験で明確に陽性 (比活性 728 ; 活性化条件下) を示す MP に焦点を絞り、上位試験である TK6 試験で調べた。

A-3. 香料の毒性評価スキームにおける一般毒性・遺伝毒性・発がん性短期包括試験の有用性評価 (小川、石井、高須) :

階層的評価における *in vivo* 評価系としての遺伝毒性・発がん性中期包括試験の有用性を検討することを目的に、*in silico* および *in vitro* で遺伝毒性が明らかになった 6-methoxyquinoline (6-MQ) について、肝遺伝毒性・発がん性中期包括試験 (GPG モデル) による *in vivo* での評価を実施した。

A-4. 肝又は腎遺伝毒性・発がん性中期包括試験 (GPG 又は GNP モデル) に関する研究 (小川、石井、高須) :

本研究事業において開発を進める香料の

毒性評価スキームにおける *in vivo* 試験として、*gpt delta* ラットを用いた一般毒性・遺伝毒性・発がん性包括試験の有用性を検討するため、JECFA で登録されている食品香料または過去に登録されていた香料の中からヒト健康影響が懸念される 2-isopropyl-N-2,3-trimethylbutyramide (ITB) について本法による評価を実施する。令和 3 年度に引き続き、本年度は一般毒性評価と ITB の毒性標的臓器の一つである肝臓の遺伝毒性評価を実施した。

B. 研究方法

B-1. エピジェネティックな影響を含むファーストスクリーニング系としての遺伝毒性評価スキーム確立に向けた基盤研究 (古濱、佐々、本間、杉山) :

B-1-1. Ames/QSAR を含む香料の遺伝毒性評価

フラン骨格を有する物質に着目し、21 香料の報告済 Ames 試験結果と 2 種類の QSAR [知識ベース DEREK Nexus (Lhasa 社); 統計ベース CASE Ultra、GT1_BMUT モデル (MultiCASE 社)] の予測結果を比較した。更に、フラン骨格を有する香料様 3 物質に対し Ames 試験と QSAR 解析を行った。

B-1-2. ヒト細胞を用いたエピ遺伝毒性試験の実施

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 LmTK6 株を利用した。被験物質を曝露した LmTK6 に aminopterin を添加して 96 穴プレートに播種し、DNA メチル化変化による薬剤耐性コロニー数から TK 復帰頻度を定量することで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* 遺伝子のクロマチン修飾を同定した。

B-1-3. 酵母細胞を用いたエピ遺伝毒性試験の実施

別添 3

ヒト *DNMT* 酵母には、DNA 維持メチル化酵素 *DNMT1* と新規メチル化酵素 *DNMT3B* 遺伝子発現プラスミドを同時形質転換した株を使用した。凝集性の確認は定常期初期の培養液で行なった。

B-1-4. 香料の使用量調査

令和 2 年において国内で実際に使用された個別指定香料および 18 類香料の約 1,800 種類の香料ごとの使用量データ（出典：令和 3 年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）「食品添加物の安全性確保に資する研究」分担研究「食品添加物の摂取量推計及び香料規格に関する研究」資料 4「香料化合物使用量調査結果」）を活用し、類ごと、および 18 類香料に属する香料品目ごとの使用量の傾向について調べた。

B-2. 細胞を用いた *in vitro* 遺伝毒性試験による遺伝毒性評価の精緻化（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。被験物質として、MP は関東化学株式会社（ACROS organics 製）から購入した。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. 香料の毒性評価スキームにおける一般毒性・遺伝毒性・発がん性短期包括試験の有用性評価（小川、石井、高須）：

陽性対照に遺伝毒性肝発がん物質 quinoline、陰性対照に Ames 試験陽性ながら *in vivo* 遺伝毒性試験及び発がん性試験で陰性を示す 8-hydroxyquinoline (8-HQ)

を用いた。*gpt del* ラットに被験物質を 4 週間投与し、2 週間の休薬後に部分肝切除を行い、切除肝を用いて *gpt* および Spi-アッセイを実施した。部分肝切除後に diethylnitrosamine を単回腹腔内投与し、1 週間後から被験物質の投与を再開し、再開 6 週目に肝臓を摘出した。6-MQ 群では死亡例がみられたことから、再開 4 日目より用量を 250 mg/kg/日に変更した。

B-4. 肝又は腎遺伝毒性・発がん性中期包括試験（GPG 又は GNP モデル）に関する研究（小川、石井、高須）：

令和 3 年度に引き続き、ITB を 5、50 又は 500 mg/kg 体重/日の用量で 13 週間強制経口投与した雄性 *gpt delta* ラットについて、全身諸臓器の病理組織学的検索を実施し、一般毒性評価を取りまとめた。遺伝毒性評価では、ITB の毒性標的臓器の一つである肝臓について *gpt assay* 及び Spi-assay による遺伝毒性評価を行った。

（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. エピジェネティックな影響を含むファーストスクリーニング系としての遺伝毒性評価スキーム確立に向けた基盤研究（古濱、佐々、本間、杉山）：

C-1-1. Ames/QSAR を含む香料の遺伝毒性評価

令和 3 年度までに実施した 18 物質の Ames 試験結果と QSAR 予測結果は、知識ベースの予測では 18 物質中 13 物質が一致

別添 3

し、統計ベースでは、18物質中5物質が一致した。令和4年度に実施したAmes試験結果とQSAR予測結果は、全ての物質でAmes試験陰性であり、統計ベースQSARのInconclusiveを陽性と判断すると、2物質において試験結果と2つのQSAR予測結果が一致し、1物質がAmes試験結果と2つのQSAR予測結果が不一致であった。

C-1-2. ヒト細胞を用いたエピ遺伝毒性試験の実施

LmTK6株のTKレポーター遺伝子には、プロモーターのDNAメチル化と活性型ヒストンマークH3K4me3が共存することが示された。DNAメチル化阻害候補物質GSK-3484862の処理によってTK復帰頻度は1,900倍まで上昇したのに対して、RG108の処理によるTK復帰頻度の変化はみられなかった。

C-1-3. 酵母細胞を用いたエピ遺伝毒性試験の実施

FLO assayを行なった結果、Emodinの用量依存的に酵母凝集性が促進される傾向を確認した。

C-1-4. 香料の使用量調査

流通実態調査結果に基づき、類ごとの品目数を比較したところ、エステル類が最も多かった。類ごとの国内使用量の割合においては、エステル類、次いでケトン類が多いことが分かった。使用量の最も多い香料はエチルマルトール、次いで δ -ドデカラクトンであった。

C-2. 細胞を用いた *in vitro* 遺伝毒性試験による遺伝毒性評価の精緻化（安井、本間、杉山）：

TK6試験の本試験は、375 μ Mを最高用量として等差25 μ Mで6用量を実施した。その結果、275および300 μ M用量群でそれぞれRelative Survivalが17.9および11.6%であり、至適用量を得ることができた。それ

らのMutant Frequency値(MF)は、それぞれ 10.4×10^{-6} および 12.1×10^{-6} であり、用量依存性を確認できた。大森法による統計処理の結果、MPは陽性と判定された。しかしながら、当ラボにおける未処理群のMFは $3.5 \sim 5.5 \times 10^{-6}$ の範囲にあり、その300 μ M用量群のMFは、わずか2倍程度の上昇であることから、専門家判断として弱い陽性であると判定した。

C-3. 香料の毒性評価スキームにおける一般毒性・遺伝毒性・発がん性短期包括試験の有用性評価（小川、石井、高須）：

Quinoline投与群の*gpt*変異体頻度は対照群に比べ有意な高値を示し、変異スペクトラム解析の結果、G:C:C:Gトランスバージョンの増加を特徴とする塩基置換型の点突然変異頻度が有意に増加した。一方、6-MQおよび8-HQ投与群における*gpt*変異体頻度及び変異スペクトラムに有意な変化は認められなかった。Quinoline投与群のSpi-変異体頻度は対照群に比べ有意な高値を示した一方、6-MQおよび8-HQ投与群では有意な変化は認められなかった。

C-4. 肝又は腎遺伝毒性・発がん性中期包括試験（GPG又はGNPモデル）に関する研究（小川、石井、高須）：

全身諸臓器の病理組織学的検索を行った結果、肝臓では肝細胞の空胞化が50 mg/kg群から認められた。一方、その他の臓器においてITBの投与に起因した変化は認められなかった。ITBの毒性標的臓器の一つである肝臓について*gpt* assay及びSpi-assayによる遺伝毒性評価を行った結果、いずれのITB投与群においても*gpt*及びSpi-MFsの有意な変化は認められなかった。また、*gpt*遺伝子の変異スペクトラム解析において、ITBに投与に起因した変異パターンの変化は認められなかった。

D. 考察

D-1. エピジェネティックな影響を含むフ

アーストスクリーニング系としての遺伝毒性評価スキーム確立に向けた基盤研究（古濱、佐々、本間、杉山）：

D-1-1. Ames/QSAR を含む香料の遺伝毒性評価

これまでの試験結果のうち、加水分解や互変異性により 3,4-Dihydroxyfuran 構造を有する 4 物質では、Ames 試験陽性であった。これら 4 物質は Ames 試験結果と知識ベースの予測が一致した。一方、加水分解や互変異性により 3,4-Dihydroxyfuran 構造を有しない 2 物質では、Ames 試験陰性であり、知識ベースの予測結果（陽性）、統計ベースの予測結果（Inconclusive）と一致しなかった。香料の QSAR 評価にも専門家による判断が重要であることが示唆された。

D-1-2. ヒト細胞を用いたエピ遺伝毒性試験の実施

LmTK6 株の TK 遺伝子座は、遺伝子発現抑制に働く DNA メチル化と転写活性化ヒストン修飾が共存し、DNA メチル化状態が柔軟に変化しやすい不活性型と活性型の中間の状態にあると考えられる。LmTK6 株を用いて、前年度おこなった 5-aza-dC に加えて GSK-3484862 による DNA 脱メチル化作用を高感度に検出することができた。一方で、RG108 については変化が見られなかった。細胞内で RG108 が DNA メチル化阻害効果を示すためには、より細胞毒性の高い濃度での処理が必要である可能性がある。

D-1-3. 酵母細胞を用いたエピ遺伝毒性試験の実施

エピジェネティック作用が疑われる Alizarin の構造類縁体である Emodin から酵母凝集性に対して Alizarin 同様の作用が検出された。今後、Emodin のエピジェネティック作用機序解析が必要と考えられる。

D-1-4. 香料の使用量調査

18 類香料の年間使用量に基づきその傾向について調査したところ、本邦における当該香料の使用実態の概要を把握できた。これら傾向を踏まえ遺伝毒性評価試験の対象となる香料を検討していく必要があると考える。

D-2. 細胞を用いた *in vitro* 遺伝毒性試験による遺伝毒性評価の精緻化（安井、本間、杉山）：

最近、MP のトランスジェニックマウス（MutaMouse）を用いる肝臓および腺胃における遺伝子突然変異誘発性は陰性であることが報告された（国立医薬品食品衛生研究所；令和 4 年度指定添加物の安全性の見直しに関する調査研究（令和 5 年 3 月））。この *in vivo* 試験の陰性結果は、Ames 試験結果より TK6 試験結果と類似していると考えられる。代謝が十分に働く個体動物を用いる *in vivo* 試験では MP は陰性になるが、代謝機能を十分に持たない *in vitro* TK6 試験では、MP を完全に解毒できず、結果的に弱い陽性反応を示したものと予想できる。

D-3. 香料の毒性評価スキームにおける一般毒性・遺伝毒性・発がん性短期包括試験の有用性評価（小川、石井、高須）：

Quinoline 投与群の *gpt* アッセイの結果は過去の報告と一致したことから、GPG モデルにより quinoline 化合物の *in vivo* における変異原性の検出が可能であることを確認した。8-HQ 投与群の結果は、8-HQ が Ames 試験で陽性を示すものの、*in vivo* において遺伝毒性は示さないというこれまでの報告を支持するものであった。6-MQ 投与群では、肝臓の *gpt* 及び Spi-変異体頻度に変化は見られなかったことから、6-MQ は 8-HQ と同様に Ames 試験において陽性を示すものの、*in vivo* において遺伝毒性を示さないことが示唆された。

D-4. 肝又は腎遺伝毒性・発がん性中期包括

試験 (GPG 又は GNP モデル) に関する研究 (小川、石井、高須) :

病理組織学的検査では令和 3 年度に報告した 4 週間の用量設定試験と同様に、肝細胞の空胞化が認められ、所見の程度は増強した。腎臓では重量の高値、BUN の高値ならびに各電解質パラメータの変動など腎毒性を示唆する変化が認められたが、腎臓に病理組織学的検査において投与に起因する変化は認められなかった。しかしながら、血中 Cl の低値ならびに腎重量の増加は 5 mg/kg 群から認められたことから本試験において NOAEL は求まらなかった。遺伝毒性評価では、ITB の毒性標的臓器の一つである肝臓において *gpt* assay 及び *Spi*-*assay* の変異頻度に変化は認められなかったことから、肝臓における遺伝毒性評価は陰性と判断した。

E. 結論

構造に注目した考察を行うことで、加水分解や互変異性により 3,4-Dihydroxyfuran を有する物質と有しない物質に対し、既存の QSAR の予測精度向上に資する知見が整理できた。今後は情報の整理すすめ、香料類の QSAR 予測改善に資する提案を取りまとめることが必要となる。樹立したエピ遺伝毒性試験株を用いて、DNA メチル化阻害効果を示す可能性のある化合物のエピジェネティック作用を定量評価することができた。さらに *TK* 遺伝子座における DNA メチル化状態およびヒストン修飾状態を可視化したことで、今後化合物の作用機序までを解明するための分子基盤が整った。Alizarin 類縁体の Emodin を用いて FLO assay を行い、Alizarin 同様の結果が得られたことから FLO assay の妥当性が高まった。国内に流通している食品用香料の使用量を整理することで、その使用実態を確認することができた。今回得られた結果は、今後遺伝毒性評価試験の対象とする香料の選定に向けた基盤データになると考える。

最近、MP のトランスジェニックマウス (MutaMouse) を用いる肝臓および腺胃における遺伝子突然変異誘発性は陰性であることが報告された (国立医薬品食品衛生研究所; 令和 4 年度指定添加物の安全性の見直しに関する調査研究 (令和 5 年 3 月))。この *in vivo* 試験の陰性結果は、Ames 試験結果より TK6 試験結果と類似していると考えられる。代謝が十分に働く個体動物を用いる *in vivo* 試験では MP は陰性になるが、代謝機能を十分に持たない *in vitro* TK6 試験では、MP を完全に解毒できず、結果的に弱い陽性反応を示したものと予想できる。

In silico 及び *in vitro* 試験において遺伝毒性陽性と判断された 6-MQ について GPG モデルによる *in vivo* における遺伝毒性・発がん性評価を実施した結果、6-MQ は変異原性試験で陰性を示し、*in vivo* において遺伝毒性を示さないことが示唆された。

一般毒性・遺伝毒性・発がん性包括試験の一般毒性評価の結果、ITB は神経毒性ならびに肝毒性を有することを明かにした。また、その腎毒性により本試験において NOAEL は求まらなかった。遺伝毒性評価では、毒性標的臓器の一つである肝臓の評価を実施した結果、陰性となった。今後、もう一つの毒性標的である腎臓における遺伝毒性評価と、肝発がん性予測評価を実施し、本試験法の有用性について取り纏める。

F. 健康危機情報

該当なし

G. 研究発表

G-1. 誌上発表

- 1) Koyama N, Sassa A. Analytical technologies to revolutionize the environmental mutagenesis and genome research from the basics to the cutting edge research : the Open Symposium of the Japanese Environmental Mutagen and Genome Society (JEMS). *Genes and*

- Environment*. 45, 9, (2023)
- 2) Liu W, Yasui M, Sassa A, You X, Wan J, Cao Y, Xi J, Zhang X, Honma M, Luan Y. FTO regulates the DNA damage response via effects on cell-cycle progression. *Mutation Research*. 887, 503608, (2023)
 - 3) Honma M, Yamada M, Yasui M, Horibata K, Sugiyama KI, Masumura K. Genotoxicity assessment of food-flavoring chemicals used in Japan. *Toxicol. Rep.* 9:1008-1012 (2022).
 - 4) Takasu S., Ishii Y., Namiki M., Nakamura K., Mitsumoto T., Takimoto N., Nohmi T., Ogawa K. Comprehensive analysis of the general toxicity, genotoxicity, and carcinogenicity of 3-acetyl-2,5-dimethylfuran in male *gpt delta* rats. *Food Chem. Toxicol.* 2023, 172, doi: 10.1016/j.fct.2022.113544.
 - 5) Kuroda K., Ishii Y., Takasu S., Matsushita K., Kijima A., Nohmi T., Umemura T. Toxicity, genotoxicity, and carcinogenicity of 2-methylfuran in a 90-day comprehensive toxicity study in *gpt delta* rats. *Food Chem. Toxicol.* 2022, 168, doi: 10.1016/j.fct.2022.113365.
 - 6) Ishii Y., Nakamura K., Mitsumoto T., Takimoto N., Namiki M., Takasu S., Ogawa K. Visualization of the distribution of anthraquinone components from madder roots in rat kidneys by desorption electrospray ionization-time-of-flight mass spectrometry imaging, *Food Chem. Toxicol.* 2022, 161, doi: 10.1016/j.fct.2022.112851.
 - 7) Ogawa K., Ishii Y., Toyoda T. Role and potential of histopathological specimens in the toxicological evaluation of pharmaceuticals and chemicals. *Nihon Yakurigaku Zasshi*. 2022, 157, 139-145, doi: 10.1254/fpj.21102.
- G-2. 学会発表
- 1) アセトアミドのラット肝発がん機序における chromoanagenesis の関与の可能性, 瀧本憲史, 石井雄二, 中村賢志, 並木萌香, 高須伸二, 満元達也, 渋谷淳, 小川久美子, 第 39 回日本毒性病理学会総会及び学術集会 2023 年 1 月, 東京
 - 2) *gpt delta* ラットを用いた肝中期試験法による 6-methoxyquinoline の *in vivo* 遺伝毒性・発がん性の評価, 高須伸二, 石井雄二, 瀧本憲史, 元達也, 相馬明玲, 能美健彦, 小川久美子, 第 39 回日本毒性病理学会総会及び学術集会 2023 年 1 月, 東京
 - 3) *gpt delta* ラットを用いた包括的毒性試験によ 2-isopropyl-N-2,3-trimethylbutylamide (ITB) の評価, 満元達也, 石井雄二, 瀧本憲史, 並木萌香, 高須伸二, 梅村隆志, 能美健彦, 小川久美子, 第 39 回日本毒性病理学会総会及び学術集会 2023 年 1 月, 東京
 - 4) Acetamide 投与ラットの肝臓に生じる大型小核の形成機序, 石井雄二, 瀧本憲史, 満元達也, 並木萌香, 高須伸二, 渋谷淳, 小川久美子, 第 39 回日本毒性病理学会総会及び学術集会 2023 年 1 月, 東京
 - 5) DNA 二本鎖切断修復における NSD2 の機能解析, 岩崎滉, 東條あかり, 安井学, 本間正充, 上村慶高, 孫継英, 田代聡, 佐々彰, 浦聖恵, 第 40 回染色体ワークショップ・第 21 回核ダイナミクス研究会, 2022 年 12 月 web 会議
 - 6) DNA 修復欠損モデルから迫る核酸誘導性自然免疫の分子機構, 佐々彰, 日本環境変異原ゲノム学会第 51 回大会,

2022年11月, 広島

- 7) DNA 修復欠損による自然免疫惹起の分子メカニズムの解明, 高藤賢, 岩崎滉, 黛結衣子, 立川明日香, 中谷一真, 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, 日本環境変異原ゲノム学会第 51 回大会, 2022年11月, 広島
- 8) クロマチン構造変化を検出可能なエピ遺伝毒性試験法の開発, 北村蒼史, 山田治人, 高藤賢, 小田切瑞基, 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 51 回大会, 2022年11月, 広島
- 9) DNA 中のリボヌクレオチドに起因する変異誘発機構とゲノム不安定性に関する研究, 佐々彰, 日本環境変異原ゲノム学会第 51 回大会, 2022年11月, 広島
- 10) ゲノム中リボヌクレオチドの蓄積が誘発する DNA 二本鎖切断の修復機構, 黛結衣子, 高藤賢, 立川明日香, 中谷一真, 安井学, 本間正充, 杉山圭一, 菅澤薫, 浦聖恵, 佐々彰, 日本環境変異原ゲノム学会第 51 回大会, 2022年11月, 広島
- 11) γ H2AX の多角的解析による内因性 DNA 二本鎖切断の定量評価, 立川明日香, 吉本侑依, 高藤賢, 黛結衣子, 中谷一真, 中村真生, 福田隆之, 菅澤薫, 浦聖恵, 佐々彰, 日本環境変異原ゲノム学会第 51 回大会, 2022年11月, 広島
- 12) 全ゲノム解析から明らかになった acetamide のラット肝腫瘍形成におけるがん遺伝子 c-Myc の関与, 石井雄二, 中村賢志, 高須伸二, 瀧本憲史, 満元達也, 並木萌香, 小川久美子, 第 51 回日本環境変異原ゲノム学会 2022年11月, 広島
- 13) ラット肝細胞における Acetamide の大型小核誘発機構に関する研究, 瀧本憲史, 石井雄二, 満元達也, 並木萌香, 高須伸二, 渋谷淳, 小川久美子, 第 51 回日本環境変異原ゲノム学会 2022年11月, 広島
- 14) アカネ色素のラット腎臓における部位特異的な腫瘍形成の機序, 満元達也, 石井雄二, 瀧本憲史, 高須伸二, 並木萌香, 梅村隆志, 能美健彦, 小川久美子, 第 51 回日本環境変異原ゲノム学会 2022年11月, 広島
- 15) フランのラット肝発がん葉特異性に着目した変異原性評価, 日比大介, 高須伸二, 石井雄二, 梅村隆志, 第 51 回日本環境変異原ゲノム学会 2022年11月, 広島
- 16) *gpt delta* マウスを用いたアクリルアミドの生殖器細胞変異原性と次世代個体ゲノム変異, 増村健一, 安東朋子, 石井雄二, 杉山圭一, 第 51 回日本環境変異原ゲノム学会 2022年11月, 広島
- 17) 病理学から見た化学物質安全性評価におけるイメージング質量分析の有用性, 石井雄二, 第 47 回日本医用マスマスベクトル学会年会 シンポジウム 2022年9月, Web 会議
- 18) Acetamide の肝発がん機序に関する検討: 血液及び肝臓中動態のラット系統差の比較, 石井雄二, 瀧本憲史, 河上強志, 田原麻衣子, 中村賢志, 満元達也, 並木萌香, 高須伸二, 小川久美子, 第 49 回日本毒性学会学術集会 2022年6月, 札幌
- 19) Acetamide が誘発するラット肝細胞における大型小核の形成機序, 瀧本憲史, 石井雄二, 満元達也, 並木萌香, 高須伸二, 渋谷淳, 小川久美子, 第 49 回日本毒性学会学術集会 2022年6月, 札幌
- 20) ゲノム不安定性から見た食品の安全性, 杉山圭一, 第 42 回日本食品・機械研究会年次大会 2022年6月, 京都

H. 知的財産権の出願・登録状況

H-1. 特許取得

該当なし

別添 3

H-2. 実用新案登録

該当なし

H-3. その他

該当なし