

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4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 大阪公立大学大学院医学研究科分子病理学 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試験法確立を目指し、本年度は新たに優先評価物質6種類を含む合計10種について、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をマイクロアレイにより取得した。併せて、これまでに構築した非遺伝毒性肝発がん物質検出モデルの改良を行い、その肝発がん性予測精度の検証を行った。その結果、これまでに解析した89物質に対して、3つの異なる発がん機序ごとにモデルを作成し、その成果を統合するモデル（機序別統合モデル）は、感度64%、特異度94%、正答率が82%となる遺伝子セットが確立でき、非遺伝毒性肝発がん物質の検出法として有用であることを示した。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、これまでに開発した検出モデル-1では、遺伝毒性肝発がん物質を感度83%及び特異度95%で検出できた。本年度は、これまでの検出モデル-1を用いた検討において偽陰性となった遺伝毒性肝発がん物質の5種類について新たな肝発がん検出モデル-2を作成し検討した。その結果、新モデル作成に用いた2物質及び2つの陽性と判定された物質の合計4物質が陽性判定とされるモデル構築が出来た。我々の開発した2つの検出モデルを組み合わせることで、遺伝毒性肝発がん物質を感度97%及び特異度95%と、高い精度で検出可能である。また、DNAアダクトーム解析による評価では、毒性予測モデルの更なる正答率向上に向け、毒性予測モデルの実用性の観点から、標準化したデータを用い、遺伝毒性予測ラベルと発がん性予測ラベルを作成し、ランダムフォレスト(RF)と線形判別分析(LDA)及びLeave-One-Out交差検証による機械学習手法により検討した結果、LDAによる結果がより良好で発がん性(83%)および遺伝毒性(65%)を予測するモデルが作成できた。

研究分担者

横平政直 香川大学医学部 医学教育学 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 講師
鈴木周五 大阪公立大学 分子病理学 准教授
魏 民 大阪公立大学 環境リスク評価学 准教授
戸塚ゆ加里 日本大学薬学部 環境衛生学 教授

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及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・安心に繋がる。

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。これまでに非遺伝毒性肝発がん物質の発がん機序に着目して構築した「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」の検出力について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。

「非遺伝毒性肝発がん物質に対する試験法」につい

て、令和2年度には陽性対照化学物質3つを含む16化学物質を、令和3年度には非遺伝毒性肝発がん物質かつ「優先評価化学物質」である5つの化学物質を含む合計20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、網羅的遺伝子発現解析を行い、各化学物質について判定を行った。その結果、これまでに解析した79化学物質について、従来モデルでは感度41%(13/32物質)、特異度100%(47/47)と感度が低いため、新規に14遺伝子モデルを作成し感度59%(19/32物質)、特異度98%(46/47)と感度の改善を認めた。しかしながら、まだ感度が6割程度と低いため高感受性モデルを作成し、感度69%(22/32物質)、特異度85%(40/47)と感度が7割と高いモデル作成に成功した一方で、特異度の低下を認めた。

令和4年度は、「優先評価化学物質」を5つ含む新たな10化学物質について検討するとともに、2つの非遺伝毒性肝発がん物質について、投与濃度による陽性判定について検証した。また、精度向上を目指して、発がん機序ごとに判定モデルを確立し、それらを統合して判定するモデル(機序別統合モデル)を作成し検証を行った(大阪公立大/鰐淵・鈴木、香川大/横平、国立衛研/豊田、名古屋市立大/加藤)。

「遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法」について、令和2~3年度は、遺伝毒性発がん物質の検出に本モデル(検出モデル-1)の有用性が確認された一方で、偽陰性を示す物質が認められ投与用量を上げて再検討を実施したものの、陰性と判定された。そこで令和4年度は、偽陰性となった物質を陽性と判定出来る新たなモデル(検出モデル-2)構築を試み検証した(大阪公立大/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を用いた予測モデルの改善を試みた(日本大学/戸塚、大阪公立大/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し肝臓を採取した。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)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による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、検出法の感度及び特異度について検証した。

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

α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(14遺伝子モデル)。

さらに、発がん物質検出感度を改善するため、14遺伝子モデルで用いた14遺伝子について、従来はがん原性試験で50%に腫瘍発生を認める投与量(TD50)以上を、判定陽性とする予測モデルを構築していたが、低用量においても判定を陽性として新たに予測モデルを再構築した(高感受性モデル)。

新たな遺伝子セットを作成するため、細胞傷害(TAA、MP)や酵素誘導(PB、HCB)、PPARαアゴニスト(CFB、WY)に属する2種の化学物質において、高用量および中間用量を投与した群と対照群との発現差がWelch T値で5以上となる遺伝子を選んだ後に各2種の化学物質で共通する遺伝子を選出した。次にそれぞれの属する化学物質の高用量投与群において、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2倍以下となる遺伝子を選出した。その結果、選出された細胞傷害4遺伝子や酵素誘導2遺伝子、PPARαアゴニスト18遺伝子が選出された。それぞれの遺伝子を用いて各発がん機序に対し陽性となる予測モデルを作成し、いずれかで陽性と判定された物質を陽性と判定する新たな予測モデルを構築した(機序別統合モデル)。

令和4年度は、「優先評価化学物質」を5つ含む新たな10化学物質について検討するとともに、2つの非遺伝毒性肝発がん物質について、投与濃度による陽性判定について検証した。

大阪公立大担当分として、非遺伝毒性肝発がん物質3種:Monuron(MON; 3 g/kg)、Mirex(MIR; 100 mg/kg)、Safrole(SAF; 10→5 g/kg)、非肝発がん物質かつ優先評価化学物質であるEthylene glycol(EG; 40 g/kg)、Terephthalic acid(TPA; 30 g/kg)を混餌投与した。

香川大学担当分として、非遺伝毒性肝発がん物質1種:Nitritotriacetic acid(NTA; 1 g/L)、非肝発がん物質かつ優先評価化学物質であるAcrylic acid(ACA; 5 g/L)、Triethanolamine(TEA; 20 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であるFuranを3, 10, 30 mg/kgで、非肝発がん物質かつ優先評価化学物質であるEthyl acrylate(EAL; 200 mg/kg)を強制胃内投与した。

名古屋市立大担当分として、非遺伝毒性肝発がん物質かつ優先評価化学物質であるBis(2-ethylhexyl)phthalate(DEHP)を5, 15, 50 g/kgで、非肝発がん物質かつ優先評価化学物質であるDimethyl terephthalate(DMT; 30 g/kg)を混餌投与した。

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)

新たな遺伝毒性肝発がん物質検出モデル-2 作成に用いた物質を表 1 に記す。これまでに行った 6 週齢の雄 SD ラットに被験物質の単回強制胃内投与試験で採取した肝組織から RNeasy mini kit (キアゲン) を用いて total RNA を抽出・精製し、GeneChip Clariom D Assay (Rat) 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、優先評価化学物質である σ -phenylenediamine (OPD)、既知の遺伝毒性肝発がん物質である 1-Amino-2,4-dibromoanthraquinone (ADBAQ) において対照群と 2 倍以上発現差がある共通遺伝子であるとともに、陰性対照である carbon tetrachloride (CCL4) で発現変動が異なる遺伝子を選出した。選出遺伝子の発現変動を基に、OPD および ADBAQ を陽性、CCL4 および平成 30 年度および令和 3 年度の対照群を陰性とする教師セットを用いて、サポートベクターマシンによる数理的アルゴリズムによる新たな遺伝毒性肝発がん物質の検出モデル-2 を作成した。

新たに作成した遺伝毒性肝発がん物質検出モデル-2 に、2-Nitropropane (2NP)、Vinyl bromide (VB)、 σ -phenylenediamine (OPD)、4,4'-Diaminodiphenyl ether (ODA)、Disperse Blue 134 (DB-134) 及び Safrole の遺伝子発現結果を入力し、判定を行った。

表1. 新たな遺伝毒性肝発がん物質検出モデルを用いた検討

被験物質	分類	TD50 (mg/kg)	LD50 (mg/kg)	投与量 (mg/kg)	判定結果 (新モデル)	正否
2-Nitropropane (2-NP)	遺伝毒性肝発がん物質	不明	不明	240	陰性	不正解
Vinyl bromide (VB)	遺伝毒性肝発がん物質	18.5	500	170	陽性	正解
CCL4	非遺伝毒性肝発がん物質	27.8	2350	780	陰性	正解
Disperse Blue 134 (DB-134)	遺伝毒性「発がん性不明」	不明	不明	2000*	陰性	不明
σ -phenylenediamine (OPD)	遺伝毒性肝発がん物質	不明	510	510	陽性	正解
Safrole	遺伝毒性肝発がん物質	441	1950	1950	陽性	正解
1-Amino-2,4-dibromoanthraquinone (ADBAQ)	遺伝毒性肝発がん物質	46	不明	2000*	陽性	正解
4,4'-Diaminodiphenyl ether (ODA)	遺伝毒性肝発がん物質	9.51	725	480	陰性	不正解

*OECD TG420 急性経口毒性試験において定められる最高用量

3. DNA アダクトーム解析による遺伝毒性評価 (鰐淵、戸塚)

今年度は、課題 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」で得られた非遺伝毒性肝発がん物質 4 種 (EE, MCT, PB, CCL4)、遺伝毒性肝発がん物質 4 種 (4,4'-ODA, NEMA, ETU, MDA)、遺伝毒性非肝発がん物質 2 種 (CPA, DNT)、非遺伝毒性非肝発がん物質 4 種 (AA, TEO, CHL, PhB) について、再度 HRAM-アダクトーム解析を行なったデータを用いて検討を行った。

抽出した DNA を、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チドに消化した後、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。

昨年までの結果から、PCA-DA のクラスタリング傾向と毒性予測モデルの正答率の乖離があることがわかった。そこで原因を究明するために、ランダムフォレスト (RF) の過学習があるのではないかと予測し、これを検証するため自由度の低い学習アルゴリズム (線形判別分析 (LDA)) を用いて物質毎・サンプル毎の leave-One-Out 交差検証 (LOOCV) の検討を実施した。また、毒性予測モデルの実用性の観点から遺伝毒性のみの遺伝毒性予測ラベル (遺伝毒性「+」or「-」) と発がん性のみの発がん性予測ラベル (発がん性「+」or「-」) を作成し、それぞれの予測モデルの検討を実施した。

(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 (鰐淵、横平、豊田、加藤、鈴木)

実験開始1週間後に SAF 群において体重減少を認めたため、2週目から10から5 g/kgへ投与濃度を下げて実験を継続した。また、実験期間中に DHEP 50 g/kg 投与群で著明な体重減少が見られ、実験23日目に1匹死亡を確認し、終屠殺時には対照群に比べ有意な体重減少を認めた。MON および SAF 投与群において、対照群に比べ体重増加抑制傾向が見られ、最終屠殺時には対照群に比べ有意な体重減少を認めた。

MON 投与群において肝重量の有意な低下、MIR および SAF 投与群においては肝臓相対重量が対照群に比べ有意な増加を認めた。Furan 投与群では用量依存性の肝重量増加が認められ、10、30 mg/kg 投与群における肝相対重量の有意な増加に加え、高用量群では肝絶対重量の増加も観察された。DEHP 投与群の5、15 mg/kg 投与群において肝重量増加を認め、いずれの投与量においても相対肝重量の有意な増加を認めた。

採取された肝組織について検討した結果、MIR、SAF、Furan、DEHP において肝細胞肥大や空胞変性などの組織学的変化を認めた。また、MON においても軽度ながら肝細胞肥大などの組織学的変化が存在した。Furan および DEHP いずれにおいても組織学的変化は用量依存性を示した。

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 103 遺伝子で構成される従来モデルおよび、新たに開発した 14 遺伝子モデルにおいて、非遺伝毒性肝発がん物質 4 物質のうち SAF のみ (25%) 発がん物質として判定された。一方、非発がん物質 6 物質は、従来モデルでは全て陰性と判定されていたが、14 遺伝子モデルでは DMT のみ陽性と判定された。高感受性モデルでは、非遺伝毒性肝発がん物質 4 物質のうち MIR と SAF が陽性 (50%) となったが、非発がん物質のうち、TPA および DMT が陽性と判定された (表 2)。

表2. 各モデルによる令和4年度検討した物質の判定結果

投与物質	略名	発がん性	従来モデル		14遺伝子モデル		高感受性モデル	
			判定	成否	判定	成否	判定	成否
Monuron	MON	陽性	陰性	x	陰性	x	陰性	x
Mirex	MIR	陽性	陰性	x	陰性	x	陽性	○
Safrole	SAF	陽性	陽性	○	陽性	○	陽性	○
Nitrotriacetic acid	NTA	陽性	陰性	x	陰性	x	陰性	x
Ethylene glycol	EGL	陰性	陰性	○	陰性	○	陰性	○
Terephthalic acid	TPA	陰性	陰性	○	陰性	○	陽性	x
Ethyl acrylate	EAL	陰性	陰性	○	陰性	○	陰性	○
Acrylic acid	ACA	陰性	陰性	○	陰性	○	陰性	○
Triethanolamine	TEA	陰性	陰性	○	陰性	○	陰性	○
Dimethyl terephthalate	DMT	陰性	陰性	○	陽性	x	陽性	x

そこで、細胞傷害や酵素誘導、PPAR α アゴニストそれぞれの発がん機序に基づいたモデルを作成し構築した機序別統合モデルを用いた結果、細胞障害モデルでMONとSAFが、酵素誘導モデルでSAFが陽性と判定された。一方、非肝発がん物質は細胞傷害や酵素誘導モデルでは陰性と判定されたものの、PPAR α アゴニストモデルでDMTが陽性と判定された。以上から、総合評価として感度50%、特異度83%と判定された(表3)。

表3. 機序別統合モデルによる令和4年度検討した物質の判定結果

予測モデル	細胞傷害物質 検出モデル	酵素誘導物質 検出モデル	PPAR α アゴニスト 物質検出モデル	総合評価
感度	50% (2/4)	25% (1/4)	0% (0/4)	50% (2/4)
特異度	100% (6/6)	100% (6/6)	83% (5/6)	83% (5/6)
正答率	80% (8/10)	70% (7/10)	50% (5/10)	70% (7/10)

これまで検証した全ての89化学物質について、各モデルにおける感度、特異度および正答率と表4にまとめた。従来モデルに比べ、14遺伝子モデルは感度が高く特異度も遜色なく正答率も80%近く認める優秀なモデルではあるが、感度が50%近くと問題点が存在する。高感受性モデルは、感度が67%と現行モデルから大幅な改善を認める優秀なモデルである一方で、特異度が下がっており改善が望まれる。

表4. これまでに検討した89物質の予測モデルごとの成績

予測モデル	従来モデル	14遺伝子モデル	高感受性モデル
感度	39% (14/36)	53% (19/36)	67% (24/36)
特異度	100% (53/53)	96% (51/53)	83% (44/53)
正答率	75% (67/89)	79% (70/89)	76% (68/89)

そこで作成した機序別統合モデルでの結果を表5に示す。各予測モデルから陽性と判定された物質を統合し、感度64%と高感受性モデルに近い高感度を得られたとともに、特異度についても偽陽性判定を統合しても94%と高い値を維持しており、正答率も80%以上ある良いモデルが作成できた。

表5. 機序別統合モデルにおけるこれまでに検討した89物質の成績

予測モデル	細胞傷害物質 検出モデル	酵素誘導物質 検出モデル	PPAR α アゴニスト 物質検出モデル	総合評価
感度	28% (10/36)	44% (16/36)	19% (7/36)	64% (23/36)
特異度	98% (52/53)	98% (52/53)	98% (52/53)	94% (50/53)
正答率	70% (62/89)	76% (68/89)	66% (59/89)	82% (73/89)

非遺伝毒性発がん物質の一部について、投与濃度を下げて検討を行った結果、Furanについては従来モデルや14遺伝子モデルで高用量以下は陰性と判定された。一方、高感受性モデルでは陽性と判定されたことから、

高感受性モデルでは低い濃度から陽性と判定出来ることが示された。新しい機序別統合モデルでは、高用量のみ陽性と判定された。DEHPについては、いずれのモデルにおいても低用量から全て陽性と判定された(表6)。

表6. 各モデルによる投与濃度ごとの発がん性判定結果

予測モデル	Furan			DEHP		
	Low	Middle	High	Low	Middle	High
従来モデル	x	x	○	○	○	○
14遺伝子モデル	x	x	○	○	○	○
高感受性モデル	○	○	○	○	○	○
機序別統合モデル	x	x	○	○	○	○

2. 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確立(鰐淵、魏)

網羅的遺伝子発現解析で取得した遺伝子発現データを新規の遺伝毒性肝発がん物質検出モデル-2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。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(非遺伝毒性ラット肝発がん物質、遺伝毒性非発がん物質)を「陰性」と判定する。その結果、VB及びSafroleが陽性と判定された。教師セットとして用いたOPD及びDBAQに合わせて、5つの遺伝毒性発がん物質のうち4つが陽性(OPD、ADBAQ、VB及びSafrole)となる新しい遺伝子セットによるモデルが確立できた(表1)。一方、2NP、ODA、及びDB-134は陰性と判定された。

3. DNAアダクトーム解析による遺伝毒性評価(鰐淵、戸塚)

まず物質毎のLOOCVの検討を行った結果、全66サンプルのうち23サンプルについて正答した(平均的な正答率35%)。毒性別の平均的な正答率は、「--」は90%、「-+」10%、「+-」0%、「++」18%であった。また、PCA-DAの「-+」と「++」は一部のクラスターが重なっており、毒性予測モデルでも「-+」の物質をLOOCVでテストしたとき「++」に誤答する傾向があり、同様に「++」の物質をLOOCVでテストしたとき「-+」に誤答する傾向が見られた(表7、図1)。

表7. 物質毎の正答率

物質名	ラベル	測定年度	正答数	回答数	正答率	予測++	予測+-	予測-+	予測--
AA	--	2019	4	5	0.8	0	0	1	4
CHL	--	2019	4	5	0.8	0	0	1	4
PhB	--	2018	5	5	1	0	0	0	5
TEO	--	2018	5	5	1	0	0	0	5
CCL4	++	2019	1	5	0.2	3	0	1	1
EE	++	2019	0	5	0	5	0	0	0
MCT	++	2018	1	5	0.2	2	0	1	2
PB	++	2018	0	5	0	1	0	0	4
GPA	+-	2018	0	5	0	0	0	4	1
DNT	+-	2019	0	4	0	3	0	1	0
44-ODA	++	2019	1	5	0.2	1	0	3	1
ETU	++	2019	0	5	0	0	0	4	1
M DA	++	2018	1	2	0.5	1	0	1	0
NEM A	++	2018	1	5	0.2	1	0	4	0
合計			23	66	0.35				

次にサンプル毎のLOOCVの検討を行った結果、全66サンプルのうち31サンプルについて正答した(平均的な正答率47%)。毒性別の平均的な正答率は、「--」は90%(物質毎のLOOCVと変化なし)、「-+」は45%(物質毎のLOOCVよりも35ポイント増加)、「+-」は0%(物質毎のLOOCVと変化なし)、「++」は24%(物質毎のLOOCVよりも6ポイント増加)であった。また、PCA-DA(図2)

でクラスターの一部分が重なった「-+」と「++」について、物質毎のLOOCVよりも「-+」は正答率が向上（10%→45%）、同様に「++」も正答率が向上（18%→24%）した（表8）。なお、すべて誤答した「+-」は正答率の変化は確認できなかった。

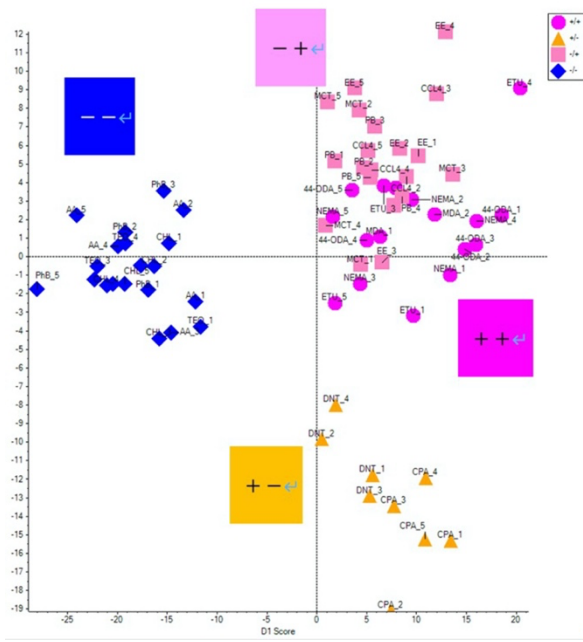


図1. 遺伝毒性肝発がん物質/遺伝毒性非肝発がん物質/非遺伝毒性肝発がん物質/非遺伝毒性非発がん物質の肝臓におけるDNA損傷性の評価（PCA-DAによる）

表8. サンプル毎の正答率

物質名	ラベル	測定年度	正答数	回答数	正答率	予測++	予測+-	予測-+	予測--
AA	--	2019	4	5	0.8	0	0	1	4
CHL	--	2019	4	5	0.8	0	0	1	4
PhB	--	2018	5	5	1	0	0	0	5
TEO	--	2018	5	5	1	0	0	0	5
CCL4	-+	2019	3	5	0.6	2	0	3	0
EE	-+	2019	5	5	1	0	0	5	0
MCT	-+	2018	1	5	0.2	2	0	1	2
PB	-+	2018	0	5	0	1	0	0	4
CPA	+-	2018	0	5	0	0	0	4	1
DNT	+-	2019	0	4	0	2	0	1	1
44-ODA	++	2019	2	5	0.4	2	0	3	0
ETU	++	2019	0	5	0	0	0	4	1
M DA	++	2018	1	2	0.5	1	0	1	0
NEM A	++	2018	1	5	0.2	1	0	4	0
合計			31	66	0.47				

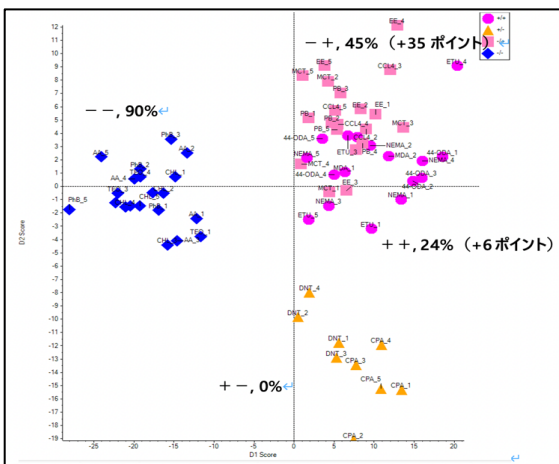


図2. サンプル毎の分類クラス別正答率。括弧内の数値は物質毎の正答率からの変化

② 毒性予測ラベルの変更による予測精度向上の検討

毒性予測モデルの正答率向上に向けて、毒性予測モデルの実用性の観点から遺伝毒性のみの毒性予測ラベル（遺伝毒性「+」or「-」）と発がん性のみの毒性予測ラベル（発がん性「+」or「-」）を作成し、毒性予測モデルの検討を実施した。

・ 遺伝毒性のみを用いた毒性予測モデル

2018年度測定データ、2019年度測定データ、2021年度測定データについて、毒性予測ラベルに遺伝毒性のみを用いた毒性予測モデルを構築・評価した（表9）。その結果、ランダムフォレスト（RF）と線形判別分析（LDA）の正答率は同程度であり、測定データと学習アルゴリズムに関係なく、正答率は物質別LOOCVよりもサンプル別LOOCVの方が高かった。また、2018年と2019年データを統合した2021年度データの正答率は、遺伝毒性と発がん性（「++」「+-」「-+」「--」の4種類の毒性予測ラベル）を組み合わせて用いた場合よりも約20ポイント向上した。

表9. 遺伝毒性のみを予測した場合の平均的な正答率

学習アルゴリズム	2018年度データ		2019年度データ		2021年度データ	
	物質毎	サンプル毎	物質毎	サンプル毎	物質毎	サンプル毎
RF	0.90	0.94	0.47	0.69	0.53	0.59
LDA	0.89	0.91	0.44	0.55	0.59	0.65

・ 発がん性のみを用いた毒性予測モデル

2018年度測定データ、2019年度測定データ、2021年度測定データについて、毒性予測ラベルに発がん性のみを用いた毒性予測モデルを構築・評価した（表10）。

その結果、遺伝毒性のみを用いた場合と同様に、RFとLDAの正答率は同程度であった。ただし、2021年度測定データはRFよりもLDAの方が正答率は約30ポイント高くなった。また、測定データと学習アルゴリズムに関係なく、正答率はおおよそ物質別LOOCVよりもサンプル別LOOCVの方が高かった。一方、2021年度データの正答率は、物質毎、サンプル毎のLOOCVに関わらず、LDAによる毒性予測結果は83%であった。

表10. 遺伝毒性のみを予測した場合の平均的な正答率

学習アルゴリズム	2018年度データ		2019年度データ		2021年度データ	
	物質毎	サンプル毎	物質毎	サンプル毎	物質毎	サンプル毎
RF	0.92	0.97	0.55	0.70	0.53	0.59
LDA	0.89	0.95	0.60	0.72	0.83	0.83

③ 5-methyl-dC によるデータの標準化

2018年測定データと2019年度測定データを合わせ、5-methyl-dCを内部標準としてnormalizeを行った。そのピークリストを用いてPCA-DA解析を行なった結果、一部の「++」と「--」は分離しなかったが、「+-」「-+」はクラスタリングされることがわかった（図3）。

さらに、毒性予測モデルの更なる正答率向上に向け、毒性予測モデルの実用性の観点から、標準化したデータを用い、遺伝毒性のみの毒性予測ラベル（遺伝毒性「+」or「-」）と発がん性のみの毒性予測ラベル（発

がん性「+」or「-」)を作成し、毒性予測モデルの検討を実施した。遺伝毒性のみの毒性(遺伝毒性「+」or「-」)と発がん性のみの毒性(発がん性「+」or「-」)に分けたPCA-DA解析の結果、遺伝毒性ではデータが分離されなかった(図4)、発がん性では「+」と「-」で分離される傾向にあることがわかった(図5)。

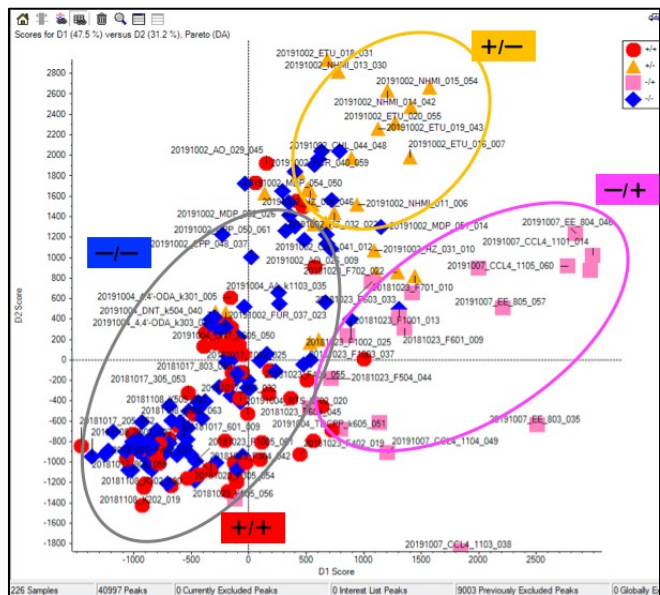


図3. 5-methyl-dCによる標準化とPCA-DA解析

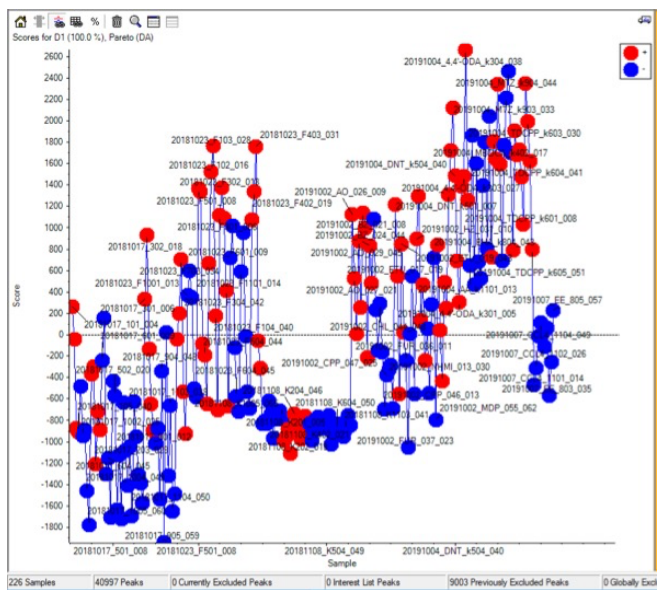


図4. 遺伝毒性の有無による分類

D. 考察

これまでに検討した化学物質において、従来モデルでは感度が低い結果となり、14遺伝子モデルで改善されているものの5割近くと、より高い感度のモデル構築が望まれる結果となった。そこで、高感受性モデルを開発したが、特異度が低下しており改善する必要があった。今年度が開発した発がん機序ごとに構築したモデルを組み合わせて作成した機序別統合モデルは、高感受性モデルに近い感受性を認めるとともに、特異度は以前のモデルと遜色ない結果が得られ、高精度のモデルが開発できたと考えられる。

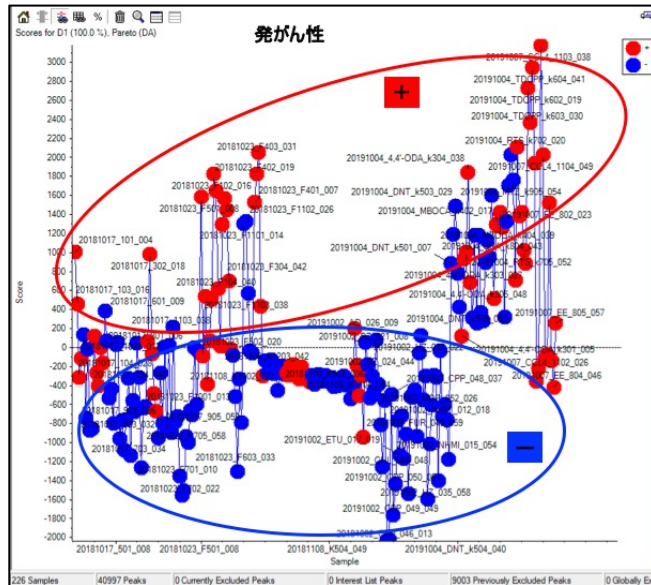


図5. 発がん性の有無による分類

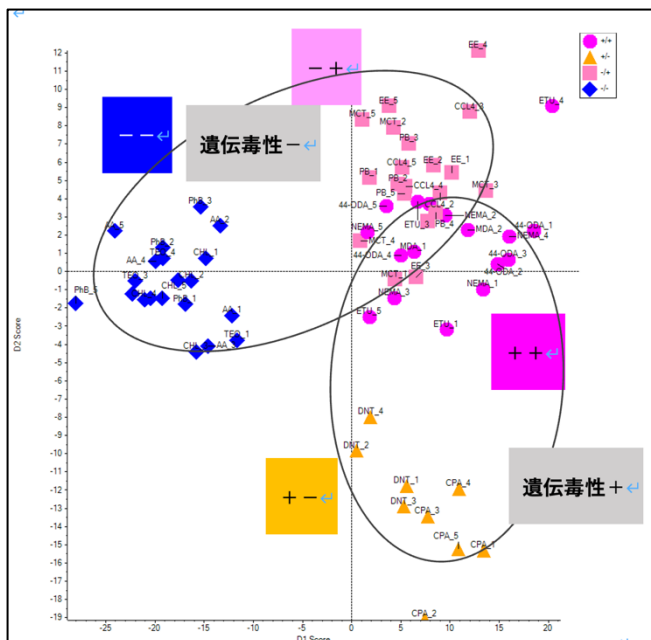


図6. 2021年度測定データのPCA-DA(遺伝毒性)

また、投与濃度による陽性判定検証では、従来モデルや14遺伝子モデルでは高濃度投与でしか陽性判定が出なかった一方で、高感受性モデルでは低用量でも陽性となったことは、モデル作成に起因すると考えられた。新たに作成した機序別統合モデルは、高感受性モデルほど低濃度での感度が高くない可能性を示した。

今回新たに作成した検出モデル-2において、5つの遺伝毒性発がん物質のうち4つが陽性となったことから、これまでに偽陰性となった遺伝毒性発がん物質には共通した発がん機序が存在する可能性が見られた。加えて、今までのモデルで陽性対照群として用いてきた2-NPが陰性となったことから既存の検出モデル-1とは異なる発がん機序である可能性を示した。また、遺伝毒性陽性で発がん性不明の「監視化学物質」DB-134はOECD TG420急性経口毒性試験において定められている最高用量の2000 mg/kgにおいても「陰性」と判定されたことから、

遺伝毒性非肝発がん物質である可能性が示唆された。

これまでに検討した69物質に対して、我々の開発した2つの検出モデルを組み合わせて用いることで、遺伝毒性肝発がん物質を感度97%及び特異度95%と、高い精度で検出可能である。

2021年度測定データについて LDA を用いた遺伝毒性のみの予測結果（59%-65%）と発がん性のみの予測結果（83%）を比較すると、発がん性のみを予測した方が正答率は高かった。その理由として、遺伝毒性のみを予測した場合には「-」と「+」が明確に分離していないこと（図6）に対して、発がん性のみを予測した場合には「-」と「+」が比較的に分離していること（図7）に起因すると考えられる。

今年度、2018年データセットと2019年データセットを統合し、5-methyl-dCのピークを内部標準として標準化を行った。PCA-DA解析を行ったところ、遺伝毒性と発がん性（「++」「+-」「-+」「--」）のうち、「+-」、「-+」、それ以外、とクラスターリングできた。「++」と「--」の分離ができなかったが、保持時間や質量数の許容度など解析ソフトの条件の変更や、5-methyl-dC以外の内部標準での標準化を試み、より精度よく分離ができる方法を検討する必要がある。

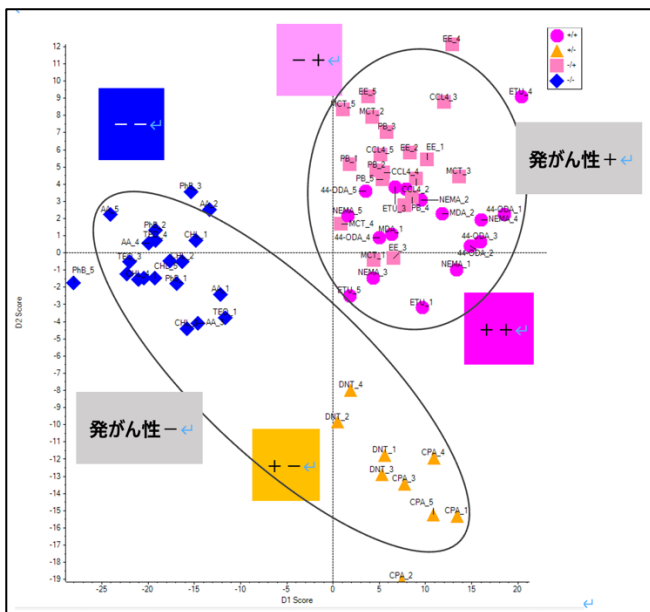


図7. 2021年度測定データのPCA-DA（発がん性）

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モデルは、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。今年度作成した機序別統合モデルは、今まで問題となっていた感度に対して向上する成果を出すとともに、特異度も高水準を保持しており、高い精度のモデルが開発できたと考えている。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、モデル作成に用いた遺伝子から肝発がん機序解明を目指したい。

我々が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および新規モデルを組み合わせて用い

ることで、遺伝毒性肝発がん物質を極めて高い精度で検出できる可能性が示唆された。

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遺伝毒性・肝発がん性への分類、遺伝毒性及び肝発がん性の予測が可能となる結果を示した。

F. 健康危険情報

今回の研究において得られた成果の中で、健康危険情報に該当する情報は得られなかった。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Toyoda T, Sone M, Matsushita K, Akane H, Akagi J, Morikawa T, Mizuta Y, Cho YM, Ogawa K. Early detection of hepatocarcinogens in rats by immunohistochemistry of γ -H2AX. J Toxicol Sci. in press
- 2) Yamaguchi T, Gi M, Fujioka M, Suzuki S, Oishi Y, Wanibuchi H. A carcinogenicity study of diphenylarsinic acid in C57BL/6J mice in drinking water for 78 weeks. J Toxicol Pathol. 2023; 36: 123-9.
- 3) Yokota Y, Suzuki S, Gi M, Yanagiba Y, Yoneda N, Fujioka M, Kakehashi A, Koda S, Suemizu H, Wanibuchi H. o-Toluidine metabolism and effects in the urinary bladder of humanized-liver mice. Toxicology. 2023; 488: 153483.
- 4) Matsushita K, Toyoda T, Akane H, Morikawa T, Ogawa K. A 13-week subchronic toxicity study of heme iron in SD rats. Food Chem Toxicol. 2023; 175: 113702.
- 5) Yamada T, Toyoda T, Matsushita K, Akane H, Morikawa T, Cho YM, Ogawa K. Persistent γ -H2AX formation and expression of stem cell markers in N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine-induced bladder carcinogenesis in rats. Toxicol Sci. 2022; 189: 51-61.
- 6) Wanifuchi-Endo Y, Kondo N, Dong Y, Fujita T, Asano T, Hisada T, Uemoto Y, Nishikawa S, Katagiri Y, Kato A, Terada M, Sugiura H, Okuda K, Kato H, Takahashi S, Toyama T. Discovering novel mechanisms of taxane resistance in human breast cancer by whole-exome sequencing. Oncol Lett. 2022; 23: 60.
- 7) Uemoto Y, Katsuta E, Kondo N, Wanifuchi-Endo Y, Fujita T, Asano T, Hisada T, Terada M, Kato A, Okuda K, Sugiura H, Komura M, Kato H, Osaga S, Takahashi S, Toyama T. Low HECTD1 mRNA expression is associated with poor prognosis and may be correlated with increased mitochondrial respiratory function in breast cancer. Am J Cancer Res. 2022; 12: 1593-605.
- 8) Toyoda T, Ogawa K. Early detection of urinary bladder carcinogens in rats by

- immunohistochemistry for γ -H2AX: a review from analyses of 100 chemicals. *J Toxicol Pathol.* 2022; 35: 283–98.
- 9) Toyoda T, Kobayashi T, Miyoshi N, Matsushita K, Akane H, Morikawa T, Ogawa K. Toxicological effects of two metabolites derived from o-toluidine and o-anisidine after 28-day oral administration to rats. *J Toxicol Sci.* 2022; 47: 457–66.
 - 10) Tagami M, Kakehashi A, Katsuyama-Yoshikawa A, Misawa N, Sakai A, Wanibuchi H, Azumi A, Honda S. FOXP3 and CXCR4-positive regulatory T cells in the tumor stroma as indicators of tumor immunity in the conjunctival squamous cell carcinoma microenvironment. *PLoS One.* 2022; 17: e0263895.
 - 11) Suzuki S, Asai K, Gi M, Kojima K, Kakehashi A, Oishi Y, Matsue T, Yukimatsu N, Hirata K, Kawaguchi T, Wanibuchi H. Response biomarkers of inhalation exposure to cigarette smoke in the mouse lung. *Journal of Toxicologic Pathology.* 2022; 35: 247–54.
 - 12) Saleh DM, Luo S, Ahmed OHM, Alexander DB, Alexander WT, Gunasekaran S, El-Gazzar AM, Abdelgied M, Numano T, Takase H, Ohnishi M, Tomono S, Hady R, Fukamachi K, Kanno J, Hirose A, Xu J, Suzuki S, Naiki-Ito A, Takahashi S, Tsuda H. Assessment of the toxicity and carcinogenicity of double-walled carbon nanotubes in the rat lung after intratracheal instillation: a two-year study. *Part Fibre Toxicol.* 2022; 19: 30.
 - 13) Ozeki T, Shimura T, Ozeki T, Ebi M, Iwasaki H, Kato H, Inaguma S, Okuda Y, Katano T, Nishie H, Takahashi S, Kataoka H. The Risk Analyses of Lymph Node Metastasis and Recurrence for Submucosal Invasive Colorectal Cancer: Novel Criteria to Skip Completion Surgery. *Cancers (Basel).* 2022; 14.
 - 14) Oikawa D, Gi M, Kosako H, Shimizu K, Takahashi H, Shiota M, Hosomi S, Komakura K, Wanibuchi H, Tsuruta D, Sawasaki T, Tokunaga F. OTUD1 deubiquitinase regulates NF-kappaB- and KEAP1-mediated inflammatory responses and reactive oxygen species-associated cell death pathways. *Cell Death Dis.* 2022; 13: 694.
 - 15) Nishino T, Abe T, Kaneko M, Yokohira M, Yamakawa K, Imaida K, Konishi H. GAREM1 is involved in controlling body mass in mice and humans. *Biochem Biophys Res Commun.* 2022; 628: 91–7.
 - 16) Narita T, Tsunematsu Y, Miyoshi N, Komiya M, Hamoya T, Fujii G, Yoshikawa Y, Sato M, Kawanishi M, SuGi Mura H, Iwashita Y, Totsuka Y, Terasaki M, Watanabe K, Wakabayashi K, Mutoh M. Induction of DNA Damage in Mouse Colorectum by Administration of Colibactin-producing Escherichia coli, Isolated from a Patient With Colorectal Cancer. *In Vivo.* 2022; 36: 628–34.
 - 17) Nagai M, Iemura K, Kikkawa T, Naher S, Hattori S, Hagihara H, Nagata KI, Anzawa H, Kugisaki R, Wanibuchi H, Abe T, Inoue K, Kinoshita K, Miyakawa T, Osumi N, Tanaka K. Deficiency of CHAMP1, a gene related to intellectual disability, causes impaired neuronal development and a mild behavioural phenotype. *Brain Commun.* 2022; 4: fcac220.
 - 18) Matsue T, Gi M, Shiota M, Tachibana H, Suzuki S, Fujioka M, Kakehashi A, Yamamoto T, Kato M, Uchida J, Wanibuchi H. The carbonic anhydrase inhibitor acetazolamide inhibits urinary bladder cancers via suppression of beta-catenin signaling. *Cancer Sci.* 2022; 113: 2642–53.
 - 19) Kondo N, Sakurai Y, Takata T, Kano K, Kume K, Maeda M, Takai N, Suzuki S, Eto F, Kikushima K, Wanibuchi H, Miyatake SI, Kajihara T, Oda S, Setou M, Aoki J, Suzuki M. Persistent elevation of lysophosphatidylcholine promotes radiation brain necrosis with microglial recruitment by P2RX4 activation. *Sci Rep.* 2022; 12: 8718.
 - 20) Kobayashi T, Kishimoto S, Watanabe S, Yoshioka Y, Toyoda T, Ogawa K, Watanabe K, Totsuka Y, Wakabayashi K, Miyoshi N. Cytotoxic homo- and hetero-dimers of o-toluidine, o-anisidine, and aniline formed by in vitro metabolism. *Chem Res Toxicol.* 2022; 35: 1625–30.
 - 21) Kato A, Naitoh I, Naiki-Ito A, Hayashi K, Okumura F, Fujita Y, Sano H, Nishi Y, Miyabe K, Inoue T, Hirano A, Takada H, Yoshida M, Hori Y, Natsume M, Kato H, Takahashi S, Kataoka H. Class III beta-Tubulin Expression Is of Value in Selecting nab-Paclitaxel and Gemcitabine as First-Line Therapy in Unresectable Pancreatic Cancer. *Pancreas.* 2022; 51: 372–9.
 - 22) Kato A, Kondo N, Wanifuchi-Endo Y, Fujita T, Asano T, Hisada T, Uemoto Y, Terada M, Kato H, Komura M, Okuda K, Takahashi S, Toyama T. Low TINAGL1 expression is a marker for poor prognosis in breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2022.
 - 23) Kato A, Kato H, Naitoh I, Hayashi K, Yoshida M, Hori Y, Kachi K, Asano G, Sahashi H, Toyohara T, Kuno K, Kito Y, Takahashi S, Kataoka H. Use of Endoscopic Scraper and Cell Block Technique as a Replacement for Conventional Brush for Diagnosing Malignant Biliary Strictures. *Cancers (Basel).* 2022; 14.

- 24) Hisada T, Kondo N, Wanifuchi-Endo Y, Osaga S, Fujita T, Asano T, Uemoto Y, Nishikawa S, Katagiri Y, Terada M, Kato A, Sugiura H, Okuda K, Kato H, Komura M, Morita S, Takahashi S, Toyama T. Co-expression effect of LLGL2 and SLC7A5 to predict prognosis in ERalpha-positive breast cancer. *Sci Rep.* 2022; 12: 16515.
- 25) Deguchi S, Tanaka H, Suzuki S, Natsuki S, Mori T, Miki Y, Yoshii M, Tamura T, Toyokawa T, Lee S, Muguruma K, Wanibuchi H, Ohira M. Clinical relevance of tertiary lymphoid structures in esophageal squamous cell carcinoma. *BMC Cancer.* 2022; 22: 699.
- 26) Chlopek M, Lasota J, Thompson LDR, Szczepaniak M, Kuzniacka A, Hincza K, Kubicka K, Kaczorowski M, Newford M, Liu Y, Agaimy A, Biernat W, Durzynska M, Dziuba I, Hartmann A, Inaguma S, Izycka-Swieszewska E, Kato H, Kopczynski J, Michal M, Michal M, Peksa R, Prochorec-Sobieszek M, Starzynska A, Takahashi S, Wasag B, Kowalik A, Miettinen M. Alterations in key signaling pathways in sinonasal tract melanoma. A molecular genetics and immunohistochemical study of 90 cases and comprehensive review of the literature. *Mod Pathol.* 2022; 35: 1609-17.
- 27) Asano G, Miyabe K, Kato H, Yoshida M, Sawada T, Okamoto Y, Sahashi H, Atsuta N, Kachi K, Kato A, Jinno N, Natsume M, Hori Y, Naitoh I, Hayashi K, Matsuo Y, Takahashi S, Suzuki H, Kataoka H. Relevance of gene mutations and methylation to the growth of pancreatic intraductal papillary mucinous neoplasms based on pyrosequencing. *Sci Rep.* 2022; 12: 419.
- 28) Arakawa N, Ushiki A, Abe M, Matsuyama S, Saito Y, Kashiwada T, Horimasu Y, Gemma A, Tatsumi K, Hattori N, Tsushima K, Miyashita K, Saito K, Nakamura R, Toyoda T, Ogawa K, Sato M, Takamatsu K, Mori K, Nishiya T, Izumi T, Ohno Y, Saito Y, Hanaoka M. Stratifin as a novel diagnostic biomarker in serum for diffuse alveolar damage. *Nat Commun.* 2022; 13: 5854.
- 29) Akane H, Toyoda T, Mizuta Y, Cho YM, Ide T, Kosaka T, Tajima H, Aoyama H, Ogawa K. Histopathological and immunohistochemical evaluation for detecting changes in blood hormone levels caused by endocrine disruptors in a 28-day repeated-dose study in rats. *J Appl Toxicol.* 2022; 42 (10):1603-17.
2. 学会発表
- 1) 鈴木周五、魏民、藤岡正喜、梯アンナ、鰐淵英機. 職業性膀胱がん関連芳香族アミン類の尿中代謝物と膀胱尿路上皮への影響. 第111回日本病理学会総会、神戸 (2022年4月)
- 2) 梯アンナ、鈴木周五、魏民、鰐淵英機. 肝発がんにおける新規標的分子ターゲットとしてのCanopy homolog 2の役割. 第111回日本病理学会総会、神戸 (2022年4月)
- 3) 加藤寛之、小村理行、内木綾、稲熊真悟、高橋智. 全身性ヘモクロマトーシスを伴う有口赤血球症の1割検例. 第111回日本病理学会総会、神戸 (2022年4月)
- 4) 森川朋美、豊田武士、赤根弘敏、松下幸平、小川久美子. ラットを用いたオリゴガラクトジュロン酸の90日間亜慢性反復経口投与毒性試験. 日本食品化学学会第28回総会・学術大会、東京 (2022年5月)
- 5) 松下幸平、豊田武士、赤根弘敏、森川朋美、小川久美子. AKIからCKDへの移行におけるCD44の役割とバイオマーカーとしての応用. 第65回日本腎臓学会学術総会、神戸 (2022年6月)
- 6) 鰐淵英機. ヒ素による発がん機序の解明. 第49回日本毒性学会学術年会、札幌 (2022年6月)
- 7) 戸塚ゆかり. 集学的アプローチによる化学物質の遺伝毒性評価の現状と将来展望. 第49回日本毒性学会学術年会、札幌 (2022年6月)
- 8) 鰐淵英機. 有機ヒ素化合物の長期毒性・発がん性機序の研究. 第49回日本毒性学会学術年会、札幌 (2022年7月)
- 9) 鈴木周五、魏民、藤岡正喜、梯アンナ、鰐淵英機. 職業性ばく露を認めたo-toluidineの尿中代謝物と膀胱尿路上皮への影響. 第49回日本毒性学会学術年会、札幌 (2022年7月)
- 10) 魏民、鈴木周五、藤岡正喜、梯アンナ、鰐淵英機. 1,4-ジオキサンの肝発がん機序の解明と定量的発がんリスク評価. 第49回日本毒性学会学術年会、札幌 (2022年7月)
- 11) 豊田武士、松下幸平、赤根弘敏、森川朋美、小川久美子. γ -H2AXを指標とした化学物質の腎発がん性早期検出系の開発. 第49回日本毒性学会学術年会、札幌 (2022年7月)
- 12) 赤木純一、水田保子、赤根弘敏、豊田武士、小川久美子. ナノサイズ酸化チタン(IV)の毒性研究. 第49回日本毒性学会学術年会、札幌 (2022年7月)
- 13) 赤根弘敏、豊田武士、松下幸平、森川朋美、小坂忠司、田島均、青山博昭、小川久美子. 甲状腺ホルモン代謝促進物質投与ラットにおける抗甲状腺作用の検出に対する病理組織学的及び免疫組織化学的解析と血中ホルモン値との比較. 第49回日本毒性学会学術年会、札幌 (2022年7月)
- 14) 松下幸平、豊田武士、赤根弘敏、森川朋美、小川久美子. アロプリノール誘発腎線維化モデルラットを用いたCD44の腎線維化バイオマーカーとしての有用性の検証. 第49回日本毒性学会学術年会、札幌 (2022年7月)
- 15) 小宮雅美、鈴木周五、魏民、鰐淵英機、戸塚ゆかり. 芳香族アミンの膀胱がんメカニズムの解析. 第29回日本がん予防学術大会、京都 (2022年7月)

- 月)
- 16) 小林琢磨、豊田武士、吉岡泰淳、岸本真治、松下幸平、赤根弘敏、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。細胞毒性を有するo-Toluidineとo-Anisidineの尿中代謝物はラット膀胱上皮でALDH1A1を誘導する。第29回日本がん予防学術大会、京都 (2022年7月)
 - 17) 加藤寛之、内木綾、小村理行、稲熊真悟、高橋智。DPYD and STAT3 pathways are inhibited by luteolin and show interdependent expression in pancreatic cancer. The 7th JCA-AACR Special Joint Conference、京都 (2022年7月)
 - 18) Kobayashi T, Yoshioka Y, Kishimoto S, Watanabe K, Totsuka Y, Wakabayashi K, Miyoshi N. In vitro metabolic dynamics for p-semidine-type homo- and hetero-dimerization of monocyclic aromatic amines. 13th International Conference on Environmental Mutagens, Ottawa (2022年8月)
 - 19) Kobayashi T, Toyoda T, Yoshioka Y, Murai N, Kishimoto S, Matsushita K, Yamada T, Ogawa K, Watanabe K, Takamura-Enya T, Totsuka Y, Wakabayashi K, Miyoshi N. Cytotoxic metabolites of o-toluidine and o-anisidine induce ALDH1A1 in rat bladder epithelium. 13th International Conference on Environmental Mutagens, Ottawa (2022年8月)
 - 20) Totsuka Y. New horizons of DNA adductome for exploring environmental causes of cancer. 13th International Conference on Environmental Mutagens, Ottawa (2022年8月)
 - 21) 松下幸平、豊田武士、赤根弘敏、森川朋美、小川久美子。薬剤性腎障害から慢性腎臓病への移行を予測するバイオマーカーの探索。第8回次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエンスフォーラム、東京 (2022年8月)
 - 22) 岡本悠佑、福井千恵、赤根弘敏、豊田武士、梶山健次、権英淑、神山文男、小川久美子、伊豆津健一、山本栄一、野村祐介。コーティング型マイクロニードルアレイにおける穿刺性及び薬剤透過性の評価、第8回次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエンスフォーラム、東京 (2022年8月)
 - 23) 鈴木周五、魏民、藤岡正喜、梯アンナ、鰐淵英機。芳香族アミンによる職業性膀胱がん。第81回日本癌学会学術総会、横浜 (2022年9月)
 - 24) 帯金明日香、小宮雅美、鈴木周五、魏民、鰐淵英機、戸塚ゆ加里。職業性膀胱がん候補化学物質によるDNA付加体の網羅的解析。第81回日本癌学会学術総会、横浜 (2022年9月)
 - 25) 魏民、鈴木周五、山下聡、藤岡正喜、梯アンナ、山本与毅、邱桂ユウ、鰐淵英機。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。第81回日本癌学会学術総会、横浜 (2022年9月)
 - 26) 藤岡正喜、魏民、鈴木周五、大石裕司、邱桂ユウ、梯アンナ、鰐淵英機。マウス経胎盤曝露モデルにおけるジフェニルアルシン酸(DPAA)のエピジェネティック修飾異常を介した肝発がんの亢進。第81回日本癌学会学術総会、横浜 (2022年9月)
 - 27) 戸塚ゆ加里、小宮雅美、松田知成、加藤護。Next generation sequencing technology elucidates the association between environmental factors and human cancer development. 第81回日本癌学会学術総会、横浜 (2022年9月)
 - 28) 小宮雅美、落合雅子、今井俊夫、戸塚ゆ加里。Establishment of novel genotoxicity assay system using organoids derived from murine normal epithelial tissues. 第81回日本癌学会学術総会、横浜 (2022年9月)
 - 29) 豊田武士、赤根弘敏、小川久美子。化学物質誘発ラット膀胱腫瘍の発生過程におけるγ-H2AXの役割。第81回日本癌学会学術総会、横浜 (2022年9月)
 - 30) 赤根弘敏、豊田武士、小川久美子。ラットを用いた病理組織学的及び免疫組織化学的手法による抗甲状腺物質の検出。第81回日本癌学会学術総会、横浜 (2022年9月)
 - 31) 赤木純一、豊田武士、小川久美子。γ-H2AXとの組み合わせによる肝発癌物質検出のためのバイオマーカーとしてのEpCAMおよびアミノペプチダーゼNの有用性。第81回日本癌学会学術総会、横浜 (2022年9月)
 - 32) 増田寛喜、豊田武士、宮下知治、吉田寛、瀬戸泰之、野村幸世。ラット外科的逆流モデルにおけるバレット食道に対するMEKインヒビターの治療効果の検討。第81回日本癌学会学術総会、横浜 (2022年9月)
 - 33) 加藤寛之、内木綾、稲熊真悟、小村理行、高橋智。The role of dipyrimidine dehydrogenase in pancreatic cancer. 第81回日本癌学会学術総会、横浜 (2022年9月)
 - 34) 藤岡正喜、魏民、鈴木周五、大石裕司、梯アンナ、邱桂鈺、芝野佳奈、鰐淵英機。マウス経胎盤ばく露による有機ヒ素化合物の発がん性およびその機序。第35回発癌病理研究会、湯沢 (2022年11月)
 - 35) 戸塚ゆ加里、小宮雅美、永井桃子、加藤護、松田知成。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35回発癌病理研究会、湯沢 (2022年11月)
 - 36) 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1回包括的がん緩和病態生理医療薬学研究会、東京 (2022年11月)
 - 37) 帯金明日香、小宮雅美、鈴木周五、魏民、鰐淵英機、戸塚ゆ加里。職業性膀胱がん候補化学物質によるDNA付加体の網羅的解析。第51回環境変異原学会、広島 (2022年11月)
 - 38) 坪井理、植嶋亜衣、久富優太、小田美光、恒松雄太、佐藤道大、平山裕一郎、三好規之、岩下雄二、吉川悠子、梶村春彦、戸塚ゆ加里、若林敬二、渡辺賢二、川西優喜。DNA鎖間架橋修復欠損細胞を用いたコリバクチン産生大腸菌の細胞毒性と遺伝毒性の評価。第51回環境変異原学会、広島 (2022

- 年 11 月)
- 39) 岡本悠佑、福井千恵、赤根弘敏、豊田武士、梶山健次、権英淑、神山文男、小川久美子、伊豆津健一、山本栄一、野村祐介. コーティング型マイクロニードルアレイにおける高極性薬剤の皮膚透過性の評価. 第 44 回日本バイオマテリアル学会、東京 (2022 年 11 月)
 - 40) 増田寛喜、豊田武士、宮下知治、吉田寛、瀬戸泰之、野村幸世. ラット外科的逆流モデルにおけるバレット食道に対する MEK インヒビターの治療効果の検討. 第 33 回日本消化器癌発生学会総会、東京 (2022 年 11 月)
 - 41) 赤木純一、水田保子、赤根弘敏、豊田武士、小川久美子. ナノサイズ二酸化チタンの 90 日間反復経口投与毒性. 第 59 回全国衛生化学技術協議会年会、川崎 (2022 年 11 月)
 - 42) 藤岡正喜、魏民、Vachiraarunwon Arpamas、鈴木周五、鰐淵英機. 無機ヒ素曝露ヒト肝マウスにおける尿中及び糞中ヒ素の化学形態別性状の解析. 第 27 回ヒ素シンポジウム、今治 (2022年12月)
 - 43) 鈴木周五、魏民、藤岡正喜、梯アンナ、鰐淵英機. ジメチルアルシン酸による膀胱発がん機序の解明. 第27回ヒ素シンポジウム、今治 (2022年12月)
 - 44) 魏民、藤岡正喜、鈴木周五、山本与毅、Vachiraarunwong Arpamas、梯アンナ、鰐淵英機. ヒ素誘発膀胱発がん過程における DNA メチル化異常の関与. 第 27 回ヒ素シンポジウム、今治 (2022 年 12 月)
 - 45) Totsuka Y. Comprehensive analyses of genome and DNA adducts elucidate association between environmental factors and human cancer development. 12th AACR-JCA Joint Conference, Maui (2022 年 12 月)
 - 46) 松下幸平、豊田武士、赤根弘敏、森川朋美、小川久美子. 薬剤性腎障害の慢性化病変における CD44 陽性尿細管の病態生理学的意義. 第 5 回医薬品毒性機序研究会、東京 (2022 年 12 月)
 - 47) 道場彩乃、魏民、櫻井映子、寺本 篤司、桐山諭和、山田 勢至、鰐淵英機、塚本徹哉. γ -H2AXとKi-67を用いた遺伝毒性肝発がん物質の早期検出:機械学習による自動判定の試み. 第39回日本毒性病理学会総会、東京 (2023年1月)
 - 48) 山本与毅、魏民、鈴木周五、藤岡正喜、Arpamas Vachiraarunwong、Guiyu Qiu、芝野佳奈、清水一希、梯アンナ、鰐淵英機. ジメチルアルシン酸誘発ラット膀胱がんにおけるDNAメチル化異常. 第39回日本毒性病理学会総会、東京 (2023年1月)
 - 49) Arpamas Vachiraarunwong, Min Gi, Tohru Kiyono, Shugo Suzuki, Kana Shibano, Guiyu Qiu, Pharapirom Aroonrat, Anna Kakehashi, Masaki Fujioka, Hideki Wanibuchi. Toxicities of various arsenicals on immortalized normal human bladder epithelial cells. 第39回日本毒性病理学会総会、東京 (2023年1月)
 - 50) 梯アンナ、西土井悠作、Guiyu Qiu、鈴木周五、藤岡正喜、魏民、鰐淵英機. ヒト浸潤性膵管癌の新規バイオマーカー候補の解析. 第39回日本毒性病理学会総会、東京 (2023年1月)
 - 51) Guiyu Qiu, 梯アンナ、鈴木周五、藤岡正喜、鰐淵英機. ヒト浸潤性膵管癌におけるPRDX3 の機能解明. 第39回日本毒性病理学会総会、東京 (2023年1月)
 - 52) 藤岡正喜、魏民、鈴木周五、芝野佳奈、Guiyu Qiu、Arpamas Vachiraarunwong、Pharapirom Aroonrat、大石裕司、梯アンナ、鰐淵英機. マウス経胎盤曝露モデルにおけるジフェニルアルシン酸(DPAA)のエピジェネティック修飾異常を介した肝発がんの亢進. 第39回日本毒性病理学会総会、東京 (2023年1月)
 - 53) 芝野佳奈、藤岡正喜、魏民、Arpamas Vachiraarunwong、Pharapirom Aroonrat、Guiyu Qiu、鈴木周五、鰐淵英機. ヒト化肝臓マウスにおける無機ヒ素の体内動態及び毒性. 第39回日本毒性病理学会総会、東京 (2023年1月)
 - 54) 鈴木周五、魏民、藤岡正喜、梯アンナ、鰐淵英機. 職業性ばく露を認めた *o*-toluidine の尿中代謝物による膀胱尿路上皮への影響. 第 39 回日本毒性病理学会総会、東京 (2023 年 1 月)
 - 55) 豊田武士、松下幸平、赤根弘敏、森川朋美、小川久美子. γ -H2AX 免疫染色を指標とした腎発がん性の短期評価法開発. 第 39 回日本毒性病理学会総会、東京 (2023 年 1 月)
 - 56) 赤根弘敏、豊田武士、松下幸平、森川朋美、小坂忠司、田島均、青山博昭、小川久美子. ヨウ素取込み阻害剤によるラット抗甲状腺作用の検出指標としての病理組織学的及び免疫組織化学的解析と血中ホルモン値の比較. 第 39 回日本毒性病理学会総会、東京 (2023 年 1 月)
 - 57) 松下幸平、豊田武士、赤根弘敏、森川朋美、小川久美子. 腎線維化における部分的上皮間葉転換の生じた尿細管の役割と CD44 との関連. 第 39 回日本毒性病理学会総会、東京 (2023 年 1 月)
 - 58) Toyoda T., Yamada T, Matsushita K, Akane H, Morikawa T, Ogawa K. Early detection of urinary bladder carcinogens in rats by immunohistochemistry for γ -H2AX. 62nd Annual Meeting of the Society of Toxicology, Nashville (2023 年 3 月)
 - 59) Ogawa K, Akagi J, Mizuta Y, Akane H, Toyoda T. Oral toxicological study of titanium dioxide nanoparticles with a crystallite diameter of 6 nm in rats. 62nd Annual Meeting of the Society of Toxicology, Nashville (2023 年 3 月)
 - 60) Akane H, Toyoda T., Matsushita K, Morikawa T, Kosaka T, Tajima H, Aoyama H, Ogawa K. Comparison of sensitivity between histopathological and immunohistochemical analyses and blood hormone levels for early detection of antithyroid effects in rats treated with thyroid peroxidase inhibitors

and promoters of thyroid hormone metabolism.
62nd Annual Meeting of the Society of Toxicology, Nashville (2023年3月)

- 61) 赤木純一、水田保子、赤根弘敏、豊田武士、小川久美子. 結晶子径 6 nm の超微小粒子径アナターゼ型二酸化チタンナノ粒子の反復経口投与毒性. 日本薬学会第 143 年会、札幌 (2023 年 3 月)
- 62) 小林琢磨、豊田武士、吉岡泰淳、渡邊正悟、岸本真治、松下幸平、赤根弘敏、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. 単環芳香族アミンの新規尿中代謝物はラット膀胱

上皮における ALDH1A1 の発現を誘導する. 日本農芸化学会 2023 年度大会、Web 開催 (2023 年 3 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