

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）  
総合研究報告書

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)

分担研究項目：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

研究分担者 豊田武士 国立医薬品食品衛生研究所 病理部 室長

## 研究要旨

令和 2～4 年度にかけて、6 週齢の雄 SD ラットに非遺伝毒性肝発がん物質 7 種：0.125% Chlorendic acid、5% Ponceau 3R、300 mg/kg Clofibrate、300 mg/kg Hexachlorobenzene、100 mg/kg Pirinixic acid、250 mg/kg Chlorobenzene および 30 mg/kg Furan、ならびに肝臓に発がん性を示さない物質として 0.75% Caprolactam および 200 mg/kg Ethyl acrylate を 28 日間反復経口投与した。また、用量相関性を検討するため、Furan を 0, 3, 10 および 30 mg/kg の用量で同様に 28 日間反復経口投与した。投与期間終了時に解剖し、肝臓の病理組織学的検索および遺伝子発現解析用の RNA 抽出を行った。病理組織学的検索の結果、肝発がん物質は肝細胞肥大等、それぞれ特徴的な肝病変を誘発することが示された。また、Furan による胆管線維症および oval cell 過形成等の特徴的な肝病変は、明確な用量相関性を示すことが明らかとなった。本研究の成果は、遺伝子セットを用いた肝発がん性短期検出法の開発に向け、有効な基礎データになり得ると考えられた。

## A. 研究目的

化審法の規制区分「監視化学物質」および「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が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、それらの物質すべてを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、肝発がん性を短期間で高精度に検証できるシステムを確立するとともに、「監視化学物質」および「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～令和元年度にかけて、「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」と「DNA アダクトーム解析による遺伝毒性/発がん性評価」は、いずれも 9 割を超える正答率で、遺伝毒性肝発がん物質を検出または遺伝毒性/非遺伝毒性肝発がん物質を分類できる試験法である。そこで、令和 2～4 年度に「監視化学物質」および「優先評価化学物質」を含め検討物質数を増やし、これらの試験法をより信頼性の高い評価法へと発展させることを目指した。また、上記試験法が対応できない非遺伝毒性肝発がん物質に対して、先行研究で開発した発がん機序別に分類できる「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」を確立するため、令和 2 年度は既知の非遺伝毒性肝発がん物質を主体に、令和 3 年度以降は「監視化学物質」および「優先評価化学物質」を含め検証および改良を図った。

最終的に、これら 3 つの試験法を組み合わせた短期肝発がん性総合評価スキームの確立を目標として研究を実施した。

## B. 研究方法

【令和 2 年度】非遺伝毒性肝発がん物質 3 種：Chlorendic acid (CRA), Ponceau 3R (CI16155), Clofibrate (CFB) および非発がん物質 1 種：Caprolactam (CPL) を、6 週齢の雄 SD ラットに 28 日間混餌投与した（各群 4 匹）。各物質の投与濃度はがん原性試験における高用量群を参考に、0.125% CRA、5% CI16155、0.5% CFB および 0.75% CPL に設定した。

【令和 3 年度】非遺伝毒性肝発がん物質 5 種：Clofibrate (CFB), Hexachlorobenzene (HCB), Pirinixic acid (Wy-14643), Chlorobenzene (CB) および Furan を、6 週齢の雄 SD ラットに、溶媒（コーン油）対照群とともに 28 日間強制経口投与した（各群 5 匹）。被験物質の中で、HCB は化審法に定める第一種特定化学物質、CB は優先評価化学物質にそれぞれ指定されている。各物質の投与濃度は短期試験における最大耐量として、300 mg/kg CFB, 300 mg/kg HCB, 100 mg/kg Wy-14643, 250 mg/kg CB および 30 mg/kg Furan に設定した。

【令和 4 年度】肝臓を標的としない非遺伝毒性発がん物質の Ethyl acrylate (EA) および非遺伝毒性肝発がん物質である Furan を選定し、6 週齢の雄 SD ラットに溶媒（コーン油）対照群とともに 28 日間強制経口投与した（各群 5 匹）。このうち EA は、化審法における優先評価化学物質に指定されている。各物質の投与濃度は短期試験における最大耐量（EA: 200 mg/kg, Furan: 30 mg/kg）を用い、Furan については病理組織学的所見および遺伝子発現動態の用量相関性を検討するため、

中・低用量群として 10 および 3 mg/kg 群を併せて設定した。

各年度とも投与期間終了時に解剖し、肝臓および腎臓の重量を測定した。肝臓の病理組織学的検索を実施するとともに、凍結採材した肝臓組織から遺伝子発現解析用の total RNA を抽出した。マイクロアレイ (GeneChip Clariom D Assay, Affymetrix) による網羅的遺伝子発現解析を、(株)セルイノベーターに委託して実施した。

(倫理面への配慮)

動物実験の実施にあたっては、使用する動物数は最小限にとどめ、国立医薬品食品衛生研究所の動物実験委員会の承認を経て、同所が定める実験動物取扱い規定に基づき、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

【令和 2 年度】対照群および各被験物質投与群の、体重・摂餌/飲水量・被験物質摂取量を表 1 に示す。CFB・CPL 投与群では体重増加量の抑制傾向が認められたものの、統計学的有意差はみられなかった。

各群の肝および腎重量を表 2 に示す。CRA 投与群では肝相対重量の低下、CI16155・CFB 投与群では肝絶対・相対重量の増加、CFB・CPL 投与群では腎相対重量の増加がそれぞれ認められた。

肝臓の病理組織学的検索の結果、CI16155 投与群では軽微な小葉中心性肝細胞肥大が、CFB 投与群では軽度のび慢性肝細胞肥大がそれぞれ認められた (図 1)。また、CRA 投与群では、肝細胞の軽微な空胞化が小葉辺縁性に時折認められた。対照群および CPL 投与群の肝臓では、明らかな病変は観察されなかった。

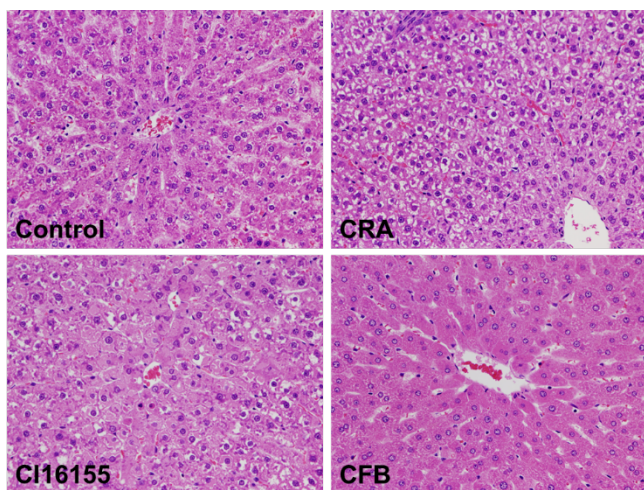


図 1. 肝臓における病理組織学的変化 (令和 2 年度)

表 1. 各投与群における体重・摂餌量・飲水量 (令和 2 年度)

Treatment	Body weight (g)		Food consumption (g/rat/day)	Water intake (g/rat/day)	Chemical intake (mg/kg/day)
	Initial	Week 4			
Control	179.9 ± 5.7	374.5 ± 32.9	25.8	32.3	-
CRA	180.1 ± 7.0	363.5 ± 25.0	22.1	32.4	92.8
CI16155	179.7 ± 7.3	371.0 ± 15.3	34.9	41.0	5665.2
CFB	179.6 ± 10.6	349.8 ± 36.7	24.8	35.5	426.5
CPL	179.6 ± 4.8	352.3 ± 13.3	25.1	35.9	648.5

CRA, chlorendic acid; CI16155, ponceau 3R; CFB, clofibrate; CPL, caprolactam.

表 2. 各投与群における肝および腎重量 (令和 2 年度)

Treatment	Liver weight		Kidney weight	
	Absolute (g)	Relative (%)	Absolute (g)	Relative (%)
Control	13.6 ± 1.48	3.64 ± 0.20	2.70 ± 0.19	0.72 ± 0.05
CRA	11.9 ± 1.00	3.26 ± 0.07*	2.65 ± 0.20	0.73 ± 0.04
CI16155	17.2 ± 0.98**	4.65 ± 0.22**	2.82 ± 0.13	0.76 ± 0.05
CFB	19.3 ± 3.08*	5.49 ± 0.47**	3.08 ± 0.40	0.88 ± 0.04**
CPL	13.6 ± 0.65	3.87 ± 0.25	3.06 ± 0.30	0.87 ± 0.06**

\*, \*\*, P < 0.05 and 0.01 vs. Control by t-test, respectively.

CRA, chlorendic acid; CI16155, ponceau 3R; CFB, clofibrate; CPL, caprolactam.

【令和 3 年度】対照群および各被験物質投与群の、体重・摂餌量・飲水量を表 3 に示す。投与開始後 3 週目以降、HCB 投与群の 2 匹が投与前後に振戦を呈し、25 日目に斃死した。Wy-14643・CB・Furan 投与群において、有意な体重増加抑制が認められた。摂餌量は Furan 投与群でやや低値の傾向を示し、飲水量に群間で差はみられなかった。

各群の肝および腎重量を表 4 に示す。CFB・HCB・Wy-14643・Furan 投与群では肝絶対/相対重量の増加、CB 投与群では肝相対重量の増加、HCB 投与群では腎絶対/相対重量の増加、CFB・Wy-14643・CB・Furan 投与群では腎相対重量の増加がそれぞれ認められた。

肝臓の病理組織学的検索の結果、CFB・Wy-14643 投与群では細胞質の好酸性顆粒状変化を伴う肝細胞肥大が、CFB 投与群では小葉中心性、Wy-14643 投与群ではび慢性に認められた (図 2)。HCB・CB 投与群においても小葉中心性肝細胞肥大が認められ、細胞質はそれぞれ好酸性、あるいは淡明なすりガラス状を呈した。Wy-14643 投与群にはこれに加えて、小葉辺縁部における胆管過形成も観察された。Furan 投与群では、肝細胞の変性および壊死、核の大型化がび慢性にみられたほか、胆管線維症および oval cell の過形成が、特に尾状葉において顕著に認められた。

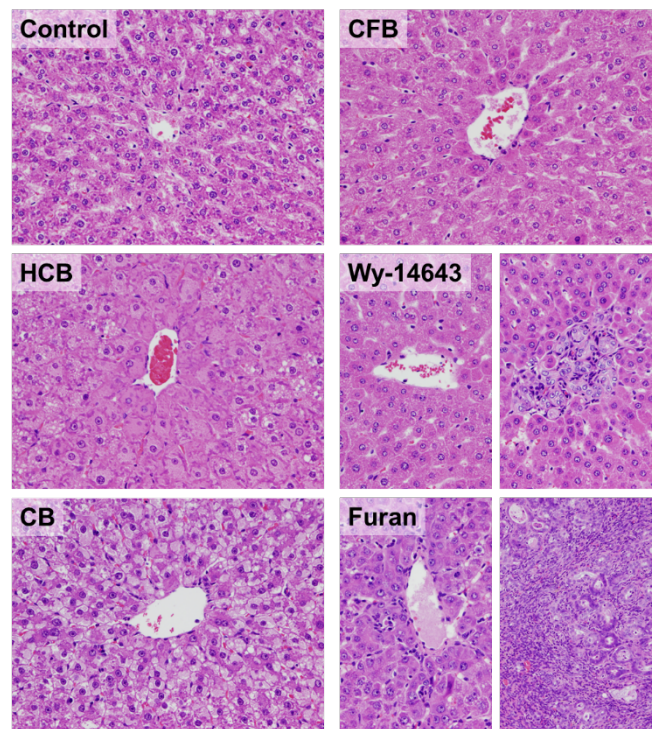


図 2. 肝臓における病理組織学的変化 (令和 3 年度)

表 3. 各投与群における体重・摂餌量・飲水量 (令和 3 年度)

Treatment	Body weight (g)		Food consumption (g/rat/day)	Water intake (g/rat/day)
	Initial	Week 4		
Control	186.4 ± 8.9	432.4 ± 40.4	23.0	36.9
CFB	186.2 ± 6.8	395.0 ± 23.0	21.9	41.3
HCB	186.2 ± 7.5	394.4 ± 33.4	19.8	36.4
Wy-14643	186.8 ± 12.0	348.1 ± 36.7**	20.1	30.9
CB	186.4 ± 7.7	371.3 ± 29.9*	21.9	38.0
Furan	186.0 ± 8.0	355.0 ± 44.1*	18.4	41.3

\*, \*\*;  $P < 0.05$  and  $0.01$  vs. Control by  $t$ -test, respectively.

CFB, clofibrate; HCB, hexachlorobenzene; Wy-14643, pirinixic acid; CB, chlorobenzene.

表 4. 各投与群における肝および腎重量 (令和 3 年度)

Treatment	Liver weight		Kidney weight	
	Absolute (g)	Relative (%)	Absolute (g)	Relative (%)
Control	18.4 ± 2.25	4.25 ± 0.14	2.99 ± 0.32	0.69 ± 0.02
CFB	23.1 ± 0.58**	5.87 ± 0.33**	3.38 ± 0.22	0.85 ± 0.03**
HCB	31.1 ± 1.28**	7.92 ± 0.59**	3.84 ± 0.25**	0.98 ± 0.02**
Wy-14643	28.0 ± 5.35**	8.00 ± 0.91**	3.20 ± 0.30	0.92 ± 0.06**
CB	18.1 ± 1.71	4.88 ± 0.32**	2.97 ± 0.26	0.80 ± 0.03**
Furan	24.8 ± 2.49**	7.00 ± 0.48**	2.79 ± 0.31	0.79 ± 0.05**

\*\*;  $P < 0.01$  vs. Control by  $t$ -test.

CFB, clofibrate; HCB, hexachlorobenzene; Wy-14643, pirinixic acid; CB, chlorobenzene.

【令和 4 年度】対照群および各被験物質投与群の、体重・摂餌量・飲水量を表 5 に示す。Furan (高用量) 投与群において、統計学的有意差はないものの体重増加抑制の傾向が認められた。同群では、摂餌量の低値および飲水量の高値傾向もみられた。

各投与群における肝および腎重量を表 6 に示す。Furan 投与群では用量依存的な肝重量増加が認められ、中および高用量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。また、Furan (高用量) 投与群では腎相対重量も有意に増加した。

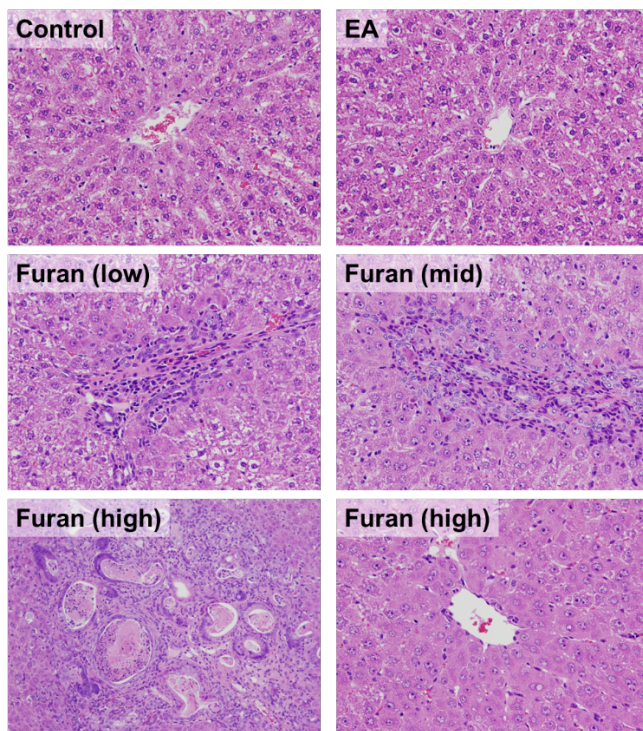


図 3. 肝臓における病理組織学的変化 (令和 4 年度)

肝臓の病理組織学的検索の結果、Furan (高用量) 投与群において、重度の胆管線維症 (図 3 下段左) および oval cell の過形成が特に尾状葉で顕著に認められ

たほか、肝細胞のび慢性肥大および核の大型化 (図 3 下段右) が観察された。Furan 投与群におけるこれらの肝病変の程度は、明確な用量相関性を示した (図 3 中段)。一方、対照群および EA 投与群では、肝臓に明らかな病変は認められなかった (図 3 上段)。

表 5. 各投与群における体重・摂餌量・飲水量 (令和 4 年度)

Treatment	Body weight (g)		Food consumption (g/rat/day)	Water intake (g/rat/day)
	Initial	Week 4		
Control	188.8 ± 9.1	413.3 ± 28.3	21.0	35.3
Ethyl acrylate	188.6 ± 9.3	392.7 ± 22.3	20.2	39.0
Furan (low)	188.8 ± 6.2	384.9 ± 42.0	19.9	38.4
Furan (mid)	188.7 ± 14.4	406.6 ± 59.8	21.8	34.3
Furan (high)	188.3 ± 10.6	358.6 ± 41.3	18.9	47.0

表 6. 各投与群における肝および腎重量 (令和 4 年度)

Treatment	Liver weight		Kidney weight	
	Absolute (g)	Relative (%)	Absolute (g)	Relative (%)
Control	16.5 ± 1.93	3.99 ± 0.24	2.80 ± 0.25	0.68 ± 0.04
Ethyl acrylate	15.3 ± 1.34	3.89 ± 0.17	2.57 ± 0.05	0.66 ± 0.04
Furan (low)	15.8 ± 3.10	4.08 ± 0.38	2.62 ± 0.48	0.68 ± 0.06
Furan (mid)	19.3 ± 3.64	4.71 ± 0.27*	2.77 ± 0.28	0.69 ± 0.05
Furan (high)	24.2 ± 2.22**	6.76 ± 0.53**	2.91 ± 0.40	0.81 ± 0.04**

\*, \*\*;  $P < 0.05$  and  $0.01$  vs. Control (Dunnett).

## D. 考察

令和 2~4 年度にかけて、6 週齢の雄 SD ラットに対し、非遺伝毒性肝発がん物質 7 種および非肝発がん物質 2 種を 28 日間反復経口投与した。

高脂血症治療薬である CFB は PPAR $\alpha$  活性化を介してペルオキシソームを増加させ、組織学的に好酸性顆粒状の肝細胞肥大を誘発することが知られている。染色液として使用される CI16155 の肝毒性/発がん機序は未解明であるが、本研究で認められたすりガラス状肝細胞肥大は、酵素誘導を介した滑面小胞体の増加が起きている可能性を示唆する。CRA は主に難燃剤・樹脂原料として利用され、以前に実施された 13 週間反復経口投与試験 (NTP, 1987) において、高用量 (0.5%以上) では肝細胞肥大・異型分裂像・胆管増生の誘導が報告されている。比較的低い用量 (0.125%) を用いた本研究ではこれらの病変は認められず、ごく軽微な空胞変性を示すにとどまった。CPL はナイロン原料として汎用され、IARC による発がん性評価において唯一、Group 4「ヒトに対する発がん性がおそくない」に分類されていた物質である (現在は Group 3 に統合)。本研究においても、肝臓に対する影響は認められなかった。

Wy-14643 は高脂血症治療薬として利用され、CFB と同様に PPAR $\alpha$  活性化を介した好酸性顆粒状の肝細胞肥大を誘発することが知られている。HCB はかつて農薬 (殺菌剤) や工業的用途に用いられたが、現在は第一種特定化学物質に指定され、流通は限定的である。ラットに対し滑面小胞体の増加を誘導することが報告されており、本研究で認められた好酸性すりガラス状の肝細胞肥大が該当する所見と考えられた。CB は合成中間体や有機溶媒として汎用され、優先評価化学物質に指定されている。ほとんどの遺伝毒性試験に陰性を示し、非遺伝毒性肝発がん物質とされているが、がん原性試験における雄 F344 ラットでの肝腫瘍発生率は 16% (8/49) と、対照群 (8%, 8/100) と比較してわずかな増加にとどまる (NTP, 1985)。Furan は化学物質の合成中間体と

して利用される一方、コーヒーや加工食品など、様々な食品中に存在することが知られている。ラット肝臓において胆道系および肝細胞の腫瘍を高頻度に発生させ、IARC による評価ではグループ 2B に分類されている (IARC, 1995)。発がん機序として、代謝物 (シス-2-ブテン-1, 4-ジアルデヒド) を介した遺伝毒性の関与も疑われている (JECFA, 2011)。本研究において、Furan はラット肝臓に種々の病理組織学的所見を誘発し、その程度は明確な用量相関性を示すことが明らかとなった。

EA は樹脂・プラスチック等のポリマー原料として用いられ、優先評価化学物質に指定されている。長期の経口投与によって齧歯類の前胃に発がん性を示すことが知られ、国際がん研究機関 (IARC) による評価ではグループ 2B (「ヒトに対する発がん性が疑われる」) に分類されている (IARC, 2019)。一方で、肝臓に対する毒性影響は報告されておらず、本研究においても肝臓に明らかな病変は認められなかった。CPL と同様に、遺伝子発現動態に基づく非遺伝毒性肝発がん物質検出法の開発における陰性対照物質として有用であることが確認された。

各被験物質投与群の肝臓から抽出した total RNA を用いた網羅的遺伝子発現解析を実施し、得られた結果を共同研究者に提出済みである。本研究の成果は、遺伝子セットを用いた肝発がん性短期検出法の開発に向け、有効な基礎データになり得ると考えられた。

## E. 結論

令和 2~4 年度にかけて、非遺伝毒性肝発がん物質 7 種および非肝発がん物質 2 種について、ラットを用いた 28 日間反復経口投与を実施し、肝臓の病理組織学的検索および遺伝子発現解析用の RNA 抽出を行った。病理組織学的検索の結果、肝発がん物質は肝細胞肥大等、それぞれ特徴的な肝病変を誘発することが示された。また、Furan による胆管線維症および oval cell 過形成等の特徴的な肝病変は、明確な用量相関性を示すことが明らかとなった。本研究の成果は、遺伝子セットを用いた肝発がん性短期検出法の開発に向け、有効な基礎データになり得ると考えられた。

## F. 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  $\gamma$ -H2AX. *J Toxicol Sci.* in press
- 2) 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.
- 3) Yamada T, Toyoda T, Matsushita K, Akane H, Morikawa T, Cho YM, Ogawa K. Persistent  $\gamma$ -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.

- 4) Toyoda T, Ogawa K. Early detection of urinary bladder carcinogens in rats by immunohistochemistry for  $\gamma$ -H2AX: a review from analyses of 100 chemicals. *J Toxicol Pathol.* 2022; 35: 283-98.
- 5) 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.
- 6) 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.
- 7) 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.
- 8) 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: 1603-17.
- 9) Yamamoto E, Taquahashi Y, Kuwagata M, Saito H, Matsushita K, Toyoda T, Sato F, Kitajima S, Ogawa K, Izutsu KI, Saito Y, Hirabayashi Y, Iimura Y, Honma M, Okuda H, Goda Y. Visualizing the spatial localization of ciclesonide and its metabolites in rat lungs after inhalation of 1- $\mu$ m aerosol of ciclesonide by desorption electrospray ionization-time of flight mass spectrometry imaging. *Int J Pharm.* 2021; 595: 120241.
- 10) 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.
- 11) 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.

- 12) Toyoda T, Matsushita K, Akane H, Morikawa T, Ogawa K. A 13-week subchronic toxicity study of 2-(1-menthoxy)ethanol in F344 rats. *J Toxicol Pathol.* 2021; 34: 309-17.
- 13) 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. *J Appl Toxicol.* 2021; 41: 607-17.
- 14) Matsushita K, Takasu S, Ishii Y, Toyoda T, Yamada T, Morikawa T, Ogawa K. In vivo mutagenicity and tumor-promoting activity of 1,3-dichloro-2-propanol in the liver and kidneys of gpt delta rats. *Arch Toxicol.* 2021; 95: 3117-31.
- 15) 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-N(4)-(2-methoxyphenyl) Benzene-1,4-diamine, in Rat Urine Associated with Urinary bladder Carcinogenesis. *Chem Res Toxicol.* 2021; 34: 912-9.
- 16) Tajima Y, Toyoda T, Hirayama Y, Matsushita K, Yamada T, Ogawa K, Watanabe K, Takamura-Enya T, Totsuka Y, Wakabayashi K, Miyoshi N. Novel o-Toluidine Metabolite in Rat Urine Associated with Urinary Bladder Carcinogenesis. *Chem Res Toxicol.* 2020; 33: 1907-14.
- 17) 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.
2. 学会発表
- 1) Toyoda T, Yamada T, Matsushita K, Akane H, Morikawa T, Ogawa K. Early detection of urinary bladder carcinogens in rats by immunohistochemistry for  $\gamma$ -H2AX. 62nd Annual Meeting of the Society of Toxicology, Nashville (2023年3月)
- 2) 豊田武士, 松下幸平, 赤根弘敏, 森川朋美, 小川久美子.  $\gamma$ -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及び学術集会, 東京 (2023年1月)
- 3) 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 $\gamma$ -H2AXの役割. 第81回日本癌学会学術総会, 横浜 (2022年9月)
- 4) 豊田武士, 松下幸平, 赤根弘敏, 森川朋美, 小川久美子.  $\gamma$ -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)
- 5) 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)
- 6) 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)
- 7) 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)
- 8) 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, 戸塚ゆかり, 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)
- 9) 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及び学術集会, 東京 (2023年1月)
- 10) 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及び学術集会, 東京 (2023年1月)
- 11) 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)
- 12) 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)
- 13) 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)
- 14) 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)
- 15) 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)
  - 16) 赤木純一、豊田武士、小川久美子.  $\gamma$ -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)
  - 17) 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)
  - 18) 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)
  - 19) 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)
  - 20) 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)
  - 21) 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)
  - 22) 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)
  - 23) 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)
  - 24) 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、戸塚ゆかり、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 回日本がん予防学会総会、京都 (2022 年 7 月)
  - 25) 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)
  - 26) 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チュロン酸の 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)
  - 27) 豊田武士、小林琢磨、三好規之、松下幸平、赤根弘敏、森川朋美、小川久美子. オルト-トルイジンおよびオルト-アニシジン代謝物の 28 日間反復経口投与によるラット膀胱への影響. 第 38 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、神戸 (2022 年 1 月)
  - 28) 豊田武士、赤根弘敏、小川久美子.  $\gamma$ -H2AX 免疫染色によるラット腎臓がん物質早期検出法の開発. 第 80 回日本癌学会学術総会、横浜 (2021 年 10 月)
  - 29) 豊田武士、山田貴宣、松下幸平、赤根弘敏、森川朋美、小川久美子.  $\gamma$ -H2AX 免疫染色を用いた芳香族アミンのラット膀胱に対する傷害性および発がん性短期評価手法. 第 48 回日本毒性学会学術年会、神戸 (2021 年 7 月)
  - 30) 赤木純一、水田保子、赤根弘敏、豊田武士、小川久美子. F344 ラットを用いたナノサイズ酸化チタン (IV) の 28 日間反復経口投与毒性試験. 第 38 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、神戸 (2022 年 1 月)
  - 31) 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. ラットにおける化学物質誘発抗甲状腺作用検出における病理組織学的及び免疫組織化学的手法と血中ホルモン値との比較. 第 38 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、神戸 (2022 年 1 月)
  - 32) 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を予測するバイオマーカーとしての CD44 の有用性の検証. 第 38 回日本毒性病理学会総会及び学術集会、神戸 (2022 年 1 月)
  - 33) 松下幸平、豊田武士、赤根弘敏、森川朋美、小川久美子. 急性腎障害後に発現する CD44 は部分的上皮間葉転換を生じた尿細管において細胞外基質産生を誘導し、慢性腎臓病への移行を促進する. 第 4 回医薬品毒性機序研究会、Web 開催 (2021 年 12 月)
  - 34) 小林琢磨、豊田武士、吉岡泰淳、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、戸塚ゆかり、若林敬二、三好規之. 単環芳香族アミンの遺伝毒性に関わる代謝活性化機構. 環境変異原ゲノム学会第 50 回記念大会、横須賀 (2021 年 11 月)
  - 35) 松下幸平、高須伸二、石井雄二、豊田武士、山田貴宣、森川朋美、小川久美子. *gpt delta* ラットを用いた中期遺伝毒性・発がん性試験法による 1,3-dichloro-2-propanol の発がん機序の解明. 環境変異原ゲノム学会第 50 回記念大会、横須賀 (2021 年 11 月)
  - 36) 赤根弘敏、豊田武士、小川久美子. ラット膀胱発がん物質早期検出における  $\gamma$ -H2AX 免疫染色の特異性. 第 80 回日本癌学会学術総会、横浜 (2021 年 10 月)

- 37) 孫雨晨、齊藤公亮、牛木淳人、安部光洋、齋藤好信、柏田建、堀益靖、弦間昭彦、巽浩一郎、服部登、津島健司、荒川憲昭、赤根弘敏、豊田武士、小川久美子、佐藤元信、高松一彦、森和彦、西矢剛淑、泉高司、大野泰雄、齋藤嘉朗、花岡正幸。メタボローム解析を用いた薬剤性間質性肺炎のバイオマーカー探索。第65回日本薬学会関東支部大会、Web開催(2021年9月)
- 38) 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。単環芳香族アミン化合物の試験管内反応による二量体形成。がん予防学術大会2021、Web開催(2021年9月)
- 39) 松下幸平、豊田武士、赤根弘敏、森川朋美、小川久美子。シスプラチン誘発 AKI to CKD モデルラットにおける CD44 の病態生理学的役割。第164回日本獣医学会学術集会、Web開催(2021年9月)
- 40) 赤木純一、曹永晩、豊田武士、水田保子、曾根瑞季、小川久美子。肝発がん物質検出のためのバイオマーカーとしての EpCAM および CD13 の有用性検討。第48回日本毒性学会学術年会、神戸(2021年7月)
- 41) 赤根弘敏、豊田武士、水田保子、小坂忠司、田島均、青山博昭、小川久美子。内分泌攪乱物質による血中ホルモン値変動と病理組織学的・免疫組織化学的評価。第48回日本毒性学会学術年会、神戸(2021年7月)
- 42) 松下幸平、豊田武士、赤根弘敏、森川朋美、小川久美子。シスプラチン誘発急性腎障害から慢性腎臓病への進展における CD44 の発現。第48回日本毒性学会学術年会、神戸(2021年7月)
- 43) 森川朋美、豊田武士、松下幸平、赤根弘敏、小川久美子。ラットを用いたヘム鉄の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27回総会・学術大会、Web開催(2021年6月)
- 44) 山本栄一、高橋祐次、栗形麻樹子、齊藤洋克、松下幸平、豊田武士、佐藤太、北嶋聡、小川久美子、伊豆津健一、齋藤嘉朗、平林容子、飯村康夫、本間正充、奥田晴宏、合田幸広。脱離エレクトロスプレーイオン化-飛行時間型質量分析イメージングによるシクレソニドの1 μm エアロゾル吸入後のラット肺におけるシクレソニドとその代謝物の空間的局在の可視化。日本薬剤学会第36年会、徳島(2021年5月)
- 45) 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)
- 46) 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、広島(2020年10月)
- 47) 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)
- 48) 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)
- 49) 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)
- 50) 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)
- 51) 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、沼津(2020年11月)
- 52) 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(2020年11月)
- 53) 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、広島(2020年10月)
- 54) 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)
- 55) 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)
- 56) 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)

## 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