

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：DNA アダクトーム解析による遺伝毒性評価

研究分担者 戸塚 ゆ加里 日本大学薬学部環境衛生学 教授

研究要旨

我々は新規のヒト発がんリスク評価法として、高分解能精密質量分析装置(HRAM)を用いた DNA 付加体の網羅的解析手法(HRAM-アダクトーム)を用いた遺伝毒性/発がん性予測モデルの構築に取り組んできた。令和2年度は、それまでの2年間で実施したデータセット(2018データセットおよび2019データセット)を統合し、複数の遺伝毒性/非遺伝毒性肝発がん物質の肝臓におけるDNA損傷性の評価を、当該研究により構築したHRAM-アダクトーム法により検討した。令和3年度は、得られた統合データを用いて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。さらに、2018年および2019年に試験したサンプルからいくつかの化学物質を抽出し、HRAM-アダクトームの再分析を実施したが、正答率の向上にはつながらなかった。そこで、毒性予測モデルの実用性の観点から遺伝毒性・発がん性ともに陰性の物質を予測できればよいのではないかと考え、毒性ラベルを再構成した予測モデルの検討を実施した。その結果、毒性ラベルが「++」と「--」のみの物質を使用した場合には、2018年度測定データで約100%、2019年度測定データで54-73%、2021年度測定データで65-89%となり、いずれもラベル変更前のデータより10-30%増加した。一方、毒性ラベルを「--」と「それ以外」に置き換えた場合では、2018年度測定データでおおよそ100%に達し、2019年度測定データで66-76%、2021年度測定データで74-95%となり、いずれもラベル変更前のデータより10-50%増加した。また、令和4年度はさらに、2018年データセットと2019年データセットを統合し、全てのサンプルに含まれる5-methyl-dCのピークを内部標準としてデータの標準化を行なったうえでPCA-DA解析を行なった。その結果、「++」と「--」の分離はできなかったが、「+-」と「-+」とそれ以外はそれぞれにクラスタリングされた。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が、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。今後、このデータを用いて毒性予測モデルの検討を行うとともに、より適当な内部標準や解析ソフトの条件設定の検索を行い、正答率の向上に向けて検討していく予定である。

A. 研究目的

既存の *in vitro* 遺伝毒性試験としては、Ames 試験(変異原性試験)、コメットアッセイ(DNA 損傷試験)、小核試験(染色体異常試験)などが簡便な試験法として汎用されている。しかしながら、これらの *in vitro* 試験のみでは化学物質の発がん性の予測や有害性発現経路(Adverse Outcome Pathway, AOP)の解析は難しく、別の視点から遺伝毒性を評価する試験法を開発することが必要であると考え。我々は、高分解能精密質量分析装置(HRAM)を用いた DNA 付加体の網羅的解析手法(HRAM-アダクトーム)を用い、DNA 損傷のより詳細な評価を行ない、化学物質の *in vitro* 安全性評価法として妥当かどうかについて検討してきた。その結果、トランスジェニックマウスモデルに対して変異原性を示すマグネタイトナノ粒子を気管内投与したマウス肺で、マグネタイトナノ粒子が誘発する G:C→A:T 及び G:C→

T:A 変異の基となる付加体(etheno-dC、 ϵ -dC)を含む複数の付加体形成を確認することを報告した。また、最近では Ames 試験陰性の発がん物質である 1,4-dioxane を投与したラット肝臓に複数の付加体形成が観察され、そのうちの一つは 8-oxodG に相当することを見出した。 ϵ -dC および 8-oxodG はいずれも酸化ストレス・炎症などに伴って形成される付加体であり、マグネタイトナノ粒子や 1,4-dioxane による変異原性誘発はこれら化学物質の直接的な作用ではなく、宿主反応を介した間接的な作用によることが推測できた。この結果は、アダクトーム法では AOP の取得も可能であり、化学物質の安全性評価手法として有用であることを示唆するものである。そこで本研究では、アダクトーム法を用いた化学物質の安全性評価法の深化と精度向上、および動物実験代替法への応用開発を目的とする。今年度は、ラットを用いた *in vivo* モデルを用い、複数の化学物質の

肝臓における DNA 損傷を HRAM-アダクトームにより検討し、DNA 付加体の生成を指標とした有害性評価の更なる精度向上について検討した。

B. 研究方法

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；2 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表 1 に示す。

表 1. 使用した化学物質

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"> 遺伝毒性ラット肝発がん物質 (+/+): 9種 o-Aminoazotoluene (AAT), Dimethylnitrosamine (DMN), 3'-Methyl-4-dimethylaminoazobenzene (MDA), 4,4'-Thiodianiline (TDA), N-Nitrosodicythylamine (NDEA), N-Nitrosoethanolamine (NDELA), N-Nitrosoethylmethylaniline (NEMA), Nitrosodibutylamine (NB), N-Nitrosopyrrolidine (NPN) 遺伝毒性非肝発がん物質 (+/+): 3種 Cyclophosphamide (CPA), Nitrofurantoin (NFT), Phenacetin (PCT) 非遺伝毒性肝発がん物質 (+/+): 2種 Monocrotaline (MCT), Phenobarbital (PB) 非遺伝毒性非肝発がん物質 (+/+): 16種 Diazepam (DZP), Disulfiram (DSF), Phenytoin (PHE), Rotenone (ROT), Tolbutamide (TLB), Aspirin (ASA), Triamterene (TRI), Indomethacin (IM), Phenylbutazone (PhB), Promethazine (PMZ), Sulindac (SUL), Tetracycline (TC), Ethionamide (ETH) Theophylline (TEO), Caffeyne (CAF), Chloramphenicol (CMP) 	<ul style="list-style-type: none"> 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 (HZ), 4,4'-Methylene-bis[2-chloro-aniline](MBOCA), Nitrosodiphenylamine (NDMA), Retorsine (RTS), Tris-(1,3-dichloro-2-propyl)phosphate (TDCPP), Vinyl Bromide (VB) 遺伝毒性非肝発がん物質 (+/+): 2種 2,4-Dinitrotoluene (containing 1.0-1.5% 2,6-dinitrotoluene) (DNT), Isonicotinic Acid Hydrazide (INH) 非遺伝毒性肝発がん物質 (+/+): 5種 Carbon Tetrachloride (CCL4), Coumarine (Coumarine), Ethynylestradiol (EE), Gemfibrozil (GFZ), Hexachlorobenzene (HCB) 非遺伝毒性非肝発がん物質 (+/+): 8種 Allyl alcohol (AA), Butylated hydroxyanisole (BHA), Chlorpheniramine (CHL), Chlorpropamide (CP), Furosemide (FUR), Methylodopa (MDP), Methimazole (MTZ), Sulfasalazine (SS)
<p>陽性対照 2-Nitropropane (2-NP)</p>	<p>陰性対照 Methyl cellulose (MC)</p>

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シ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。

令和 2 年度は得られたすべてのデータを用い、主成分判別分析 (PCA-DA) により解析した。

令和 3-4 年度は、これらのうち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。

(倫理面の配慮)

本研究で行う動物実験にあたっては、国立がん研究センターを含む各施設における動物実験に関する指針に則って実施し、可能な限り実験動物の苦痛軽減処置を行う。

C. 研究結果

令和 2 年度は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。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。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 2)。

表 2. 遺伝毒性の予測結果

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

令和 3 年度は、2018 年および 2019 年に試験したサンプルからいくつかの化学物質を抽出し、今年度 HRAM-アダクトームの再分析を実施した結果を図 1 に示す (2021 データ)。LDA 解析を行なったところ、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わかった。

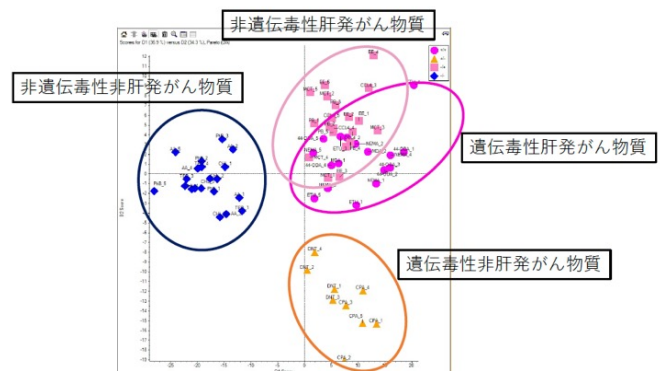


図 1. 遺伝毒性肝発がん物質/遺伝毒性非肝発がん物質/非遺伝毒性肝発がん物質/非遺伝毒性非肝発がん物質の肝臓における DNA 損傷性の評価 (LDA 解析による)

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 2021 年データセットに対して予測を行ったところ、予測結果が低いことがわかった (表 3)。

そこで、毒性予測モデルの正答率向上に向け、これまでモデル作成に用いてきたランダムフォレスト (RF) ではなく、線形判別分析 (LDA) を用い、かつ毒性予測モデルの実用性の観点から遺伝毒性・発がん性ともに陰性の物質を予測できればよいのではないかと考え、毒性ラベルを再構成した予測モデルの検討を実施した。その結果、学習アルゴリズムについては RF、LDA の正答率は殆ど同じか若干 LDA の方が良く、毒性ラベルが「++」と「--」のみの物質を使用した場合には、2018 年度測定データで約 100%、2019 年度測定データで 54-73%、2021 年度測定データで 65-89% となり、いずれもラベル変更前の

データより10-30%増加した。

一方、毒性ラベルを「--」と「それ以外」に置き換えた場合では、2018年度測定データでおおよそ100%に達し、2019年度測定データで66-76%、2021年度測定データで74-95%となり、いずれもラベル変更前のデータより10-50%増加した。

表3. 遺伝毒性の予測結果

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+0	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
MDA	++	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				

Leave-One-Out 交差検証による正答率の評価

令和4年度は、それまでの結果から、PCA-DAのクラスター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を用いて物質毎・サンプル毎のL00CVの検討を実施した。まず物質毎のL00CV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%）。毒性的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（図2）、毒性予測モデルでも「+-」の物質をL00CV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L00CVでテストしたとき「+-」に誤答する傾向が見られた（図2、表4）。

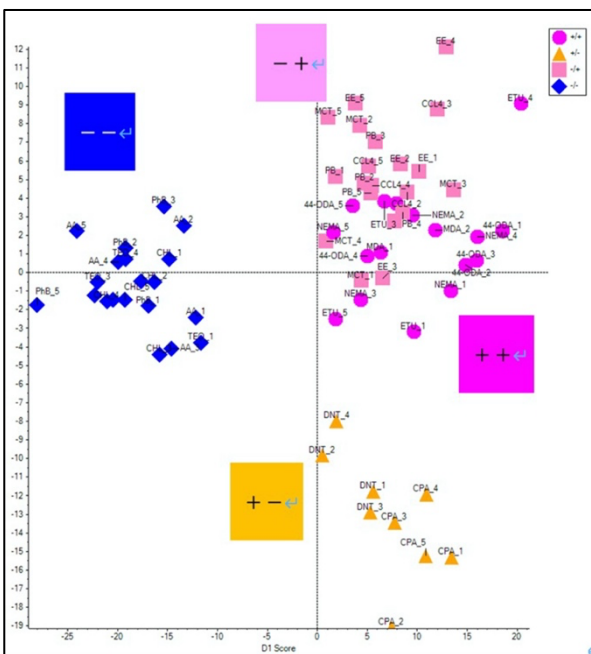


図2. 遺伝毒性肝発がん物質/遺伝毒性非肝発がん物質/非遺伝毒性肝発がん物質/非遺伝毒性非発がん物質の肝臓におけるDNA損傷性の評価（PCA-DAによる）

表4. 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+0	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
MDA	++	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				

次にサンプル毎のL00CV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%）。毒性的の平均的な正答率は、「--」は90%（物質毎のL00CVと変化なし）、「+-」は45%（物質毎のL00CVよりも35ポイント増加）、「++」は0%（物質毎のL00CVと変化なし）、「++」は24%（物質毎のL00CVよりも6ポイント増加）であった。また、PCA-DA（図3）でクラスターの一部分が重なった「+-」と「++」について、物質毎のL00CV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5）。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。

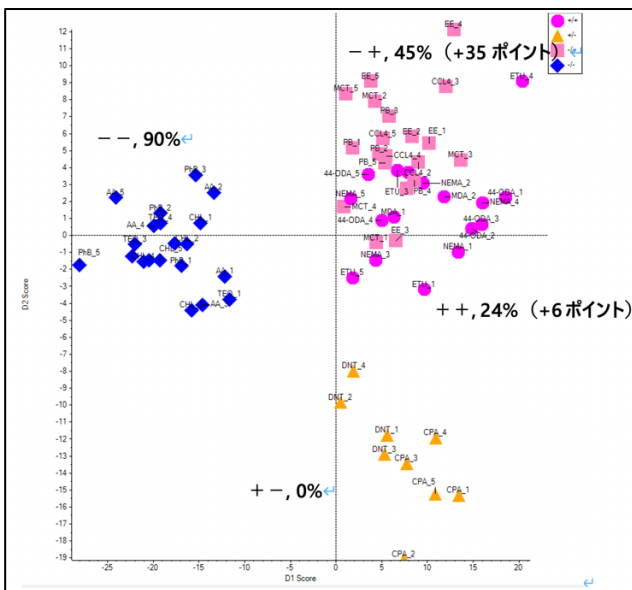


図3. サンプル毎の分類クラス別正答率。括弧内の数値は物質毎の正答率からの変化

表5. 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+0	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
CPA	+-	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
MDA	++	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				

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6）。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 L00CV よりもサンプル別 L00CV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6. 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のみを用いた毒性予測モデルを構築・評価した（表7）。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 L00CV よりもサンプル別 L00CV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L00CVに関わらず、LDAによる毒性予測結果は83%であった。

表7. 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

5-methyl-dCによるデータの標準化

2018年測定データセットと2019年測定データセットを統合し、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、「++」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4）。

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が、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、6）。

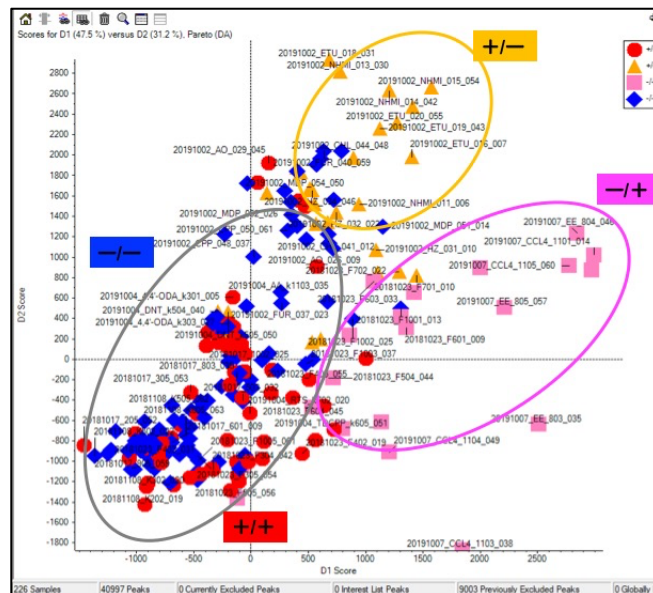


図4. 5-methyl-dCによる標準化とPCA-DA解析

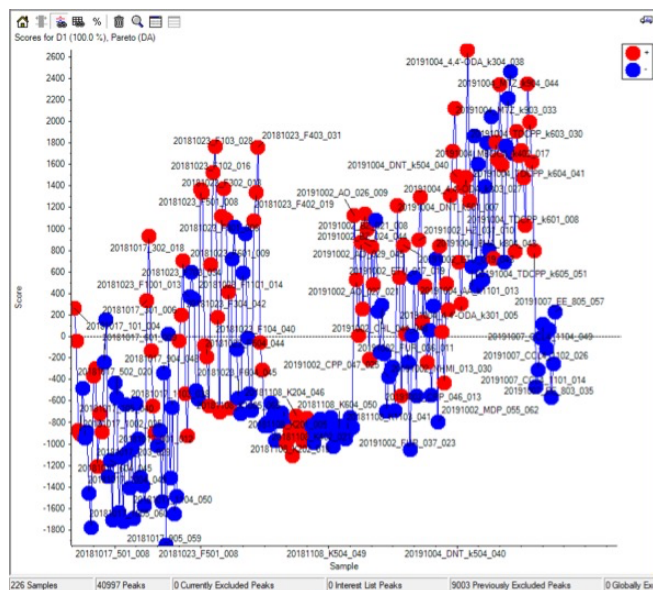


図5. 遺伝毒性の有無による分類

D. 考察

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7）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8）に起因すると考えられる。

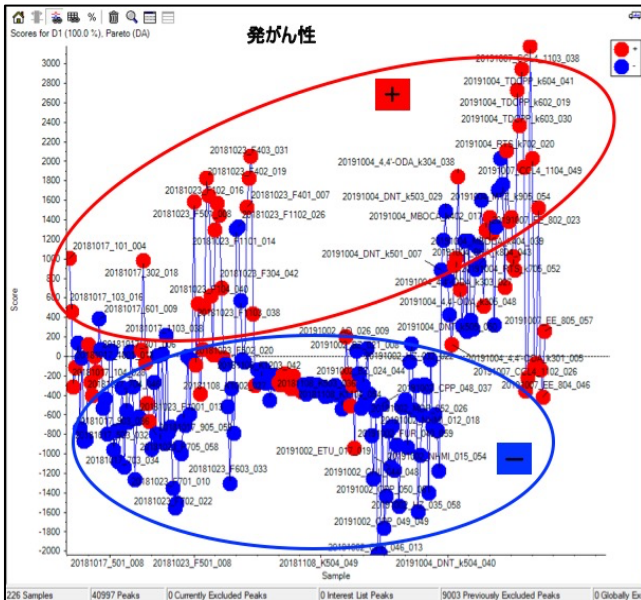


図 6. 発がん性の有無による分類

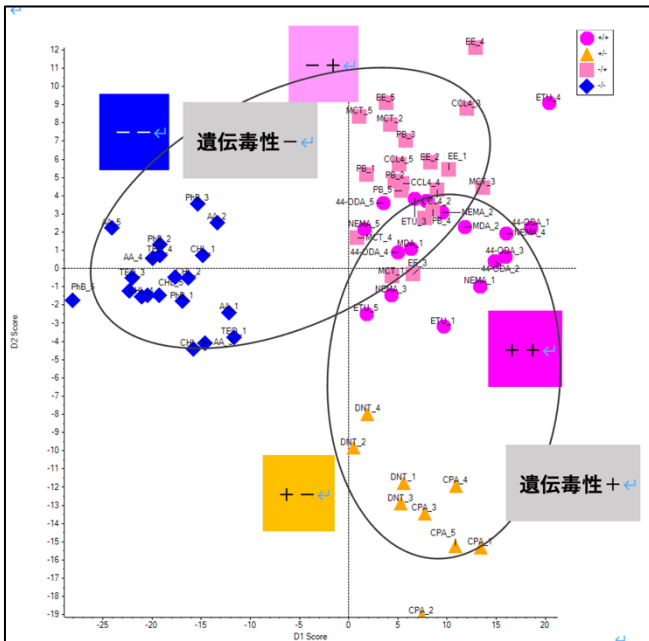


図 7. 2021 年度測定データの PCA-DA (遺伝毒性)

令和 4 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、とクラスタリングできた。「++」と「--」の分離ができなかった。遺伝毒性の有無、発がん性の有無のみで分類した結果、発がん性の有無ではデータの分離傾向が観察され、2021 年データセットの LDA を用いた予測結果と一致した。今後、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。

E. 結論

毒性ラベルを再構成した予測モデルの検討を実施した。その結果、毒性ラベルが「++」と「--」のみの物質

を使用した場合には、2018 年度測定データで約 100%、2019 年度測定データで 54-73%、2021 年度測定データで 65-89% となり、いずれもラベル変更前のデータより 10-30% 増加した。一方、毒性ラベルを「--」と「それ以外」に置き換えた場合には、2018 年度測定データでおおよそ 100% に達し、2019 年度測定データで 66-76%、2021 年度測定データで 74-95% となり、いずれもラベル変更前のデータより 10-50% 増加した。また、今年度はさらに、2018 年データセットと 2019 年データセットを統合し、全てのサンプルに含まれる 5-methyl-dC のピークを内部標準としてデータの標準化を行なったうえで PCA-DA 解析を行なった。その結果、「++」と「--」の分離はできなかったが、「+-」と「-+」とそれ以外はそれぞれにクラスタリングされた。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が、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。今後、このデータを用いて毒性予測モデルの検討を行うとともに、より適当な内部標準や解析ソフトの条件設定の検索を行い、正答率の向上に向けて検討していく予定である。

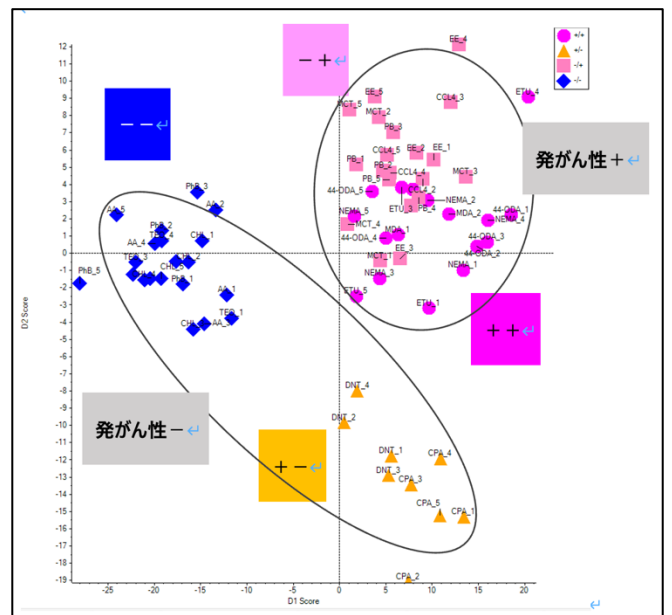


図 8. 2021 年度測定データの PCA-DA (発がん性)

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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.
- 2) Narita T, Tsunematsu Y, Miyoshi N, Komiya M, Hamoya T, Fujii G, Yoshikawa Y, Sato M, Kawanishi M, Sugimura 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.
 - 3) Komiya M, Ishigami R, Naruse M, Ochiai M, Miyoshi N, Imai T, Totsuka Y. Establishment of Novel Genotoxicity Assay System Using Murine Normal Epithelial Tissue-Derived Organoids. *Front Genet.* 2021; 12: 768781.
 - 4) Takahashi M, Hamoya T, Narita T, Fujii G, Totsuka Y, Hagio M, Tashiro K, Komiya M, Mutoh M. Complex Modulating Effects of Dietary Calcium Intake on Obese Mice. *In Vivo.* 2021; 35: 2107-14.
 - 5) 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.
 - 6) Totsuka Y, Watanabe M, Lin Y. New horizons of DNA adductome for exploring environmental causes of cancer. *Cancer Sci.* 2021; 112: 7-15.
 - 7) Lu KT, Yamamoto T, McDonald D, Li W, Tan M, Moi ML, Park EC, Yoshimatsu K, Ricciardone M, Hildesheim A, Totsuka Y, Nanbo A, Putscharen 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.
 - 8) 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.
 - 9) 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.
 - 10) 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.
 - 11) 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.
2. 学会発表
- 1) 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、Web開催 (2020年6月)
 - 2) 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、Web開催 (2020年9月)
 - 3) 戸塚ゆ加里. Prospects for elucidating the cancer etiology and prevention by multidisciplinary approach、広島、第79回癌学会 (2020年10月)
 - 4) 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、Web開催 (2020年10月)
 - 5) 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、静岡 (2020年9月)
 - 6) 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、Web開催 (2021年1月)
 - 7) 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、Web開催 (2021年3月)
 - 8) 戸塚ゆ加里. 質量分析機器を用いたDNA付加体の網羅的解析手法 (DNAアダクトーム) の現状と将来展望. 第81回分析化学討論会、Web開催 (2021年5月)
 - 9) 戸塚ゆ加里. DNA付加体の網羅的解析手法 (DNAアダクトーム) の現状と将来展望. 第144回日本薬理学会関東支部会、Web開催 (2021年6月)
 - 10) 戸塚ゆ加里. Comprehensive analyses of genome and DNA adducts elucidate association between environmental factors and human cancer development. 第80回日本癌学会学術総会、横浜 (2021年10月)
 - 11) 戸塚ゆ加里. 生体を模倣した*in vitro*遺伝毒性評価. 第50回 環境変異原学会、横須賀 (2021年11月)
 - 12) 戸塚ゆ加里. ゲノムおよびDNA付加体の網羅的解析により環境因子とがん発生との関連を解明する.

- 第95回日本薬理学会、福岡（2022年3月）
- 13) 戸塚ゆ加里. ナノマテリアルに特化した新規 *in vitro* 生体模倣評価系の開発. 日本薬学会 第142年会、Web開催（2022年3月）
 - 14) 戸塚ゆ加里. 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）
 - 15) 小宮雅美、鈴木周五、魏民、鰐淵英機、戸塚ゆ加里. 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）
 - 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) 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)
 - 18) 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)
 - 19) Totsuka Y. New horizons of DNA adductome for exploring environmental causes of cancer. 13th International Conference on Environmental Mutagens, Ottawa (2022年8月)
 - 20) 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）
 - 21) 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、横浜）
 - 22) 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）
 - 23) 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、新潟（2022年11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51回環境変異原学会、広島（2022年11月）
 - 25) 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）
 - 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. 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）
 - 27) Yukari Totsuka. 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)

G. 知的財産権の出願・登録状況

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