

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)

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による毒性や発がん性の標的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、令和2～4年度に非遺伝毒性肝発がん物 21 種類と、非発がん物質 11 種類の合計 32 種類の化学物質について、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。採取した肝組織から RNA を抽出、マイクロアレイ解析を行った。上記の物質とともに Open TG-GATE に登録されている非遺伝毒性肝発がん物 15 種類と非肝発がん物質 42 種類を合わせた合計 89 種について、従来モデルで検討した結果、感度 39%、特異度 100%、正答率 75%と感度が低いことが確認出来た。そこで令和2年度に 14 遺伝子モデルを、令和3年度に高感受性モデルを、令和4年度は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）を作成した。機序別統合モデルは、感度 64%(23/36)、特異度 94%(50/53)、正答率が 82%(73/89)と、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、まずは、「監視化学物質」及び「優先評価化学物質」を含む 6 化学物質を用いたラット単回投与を行い、投与 24 時間後の肝臓におけるマーカー遺伝子（10 遺伝子）の発現データを qPCR で取得し、我々が構築した遺伝毒性肝発がん物質検出モデル（検出モデル-1）を用いて肝発がん性を予測した。その結果、「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 1 物質含めた 3 遺伝毒性肝発がん物質は「陰性」と判定された。これまでに検討した 69 物質に対して、検出モデル 1 は遺伝毒性肝発がん物質を、感度 83%、特異度 95%、正答率 90%の精度で検出できた。次に、さらなる精度向上のため、偽陰性になった遺伝毒性肝発がん物質についても検出できる補完モデル（検出モデル-2）の開発を行った。これまでに検出モデル-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 種類について検出モデル-2 を用いて検討した結果、上述の 5 つの遺伝毒性発がん物質のうち 4 つが「陽性」と判定された。さらに、検出モデル-1 と検出モデル-2 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%の精度で検出可能であることが明らかになった。以上より、我々が 2 つの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。また、DNA アダクトーム解析による評価では、遺伝毒性肝発がん物質短期検出モデルで得られた肝組織における DNA 損傷性評価を HRAM-アダクトーム法により検討し、遺伝毒性/発がん性予測モデルの構築を行った。令和2年度は検出モデルごとに予測精度が異なり、解析物質数を増やすと精度の低下を認めた。令和3～4年度は正答率向上に向け、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。その結果、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、肝臓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臓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臓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臓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臓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臓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臓がん物質を主体に、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、短期肝臓がん性総合評価スキームの確立を目指す。

「非遺伝毒性肝臓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臓がん物質かつ「優先評価化学物質」である5つの化学物質を含む合計20化学物質を、令和4年度は、「優先評価化学物質」を5つ含む新たな10化学物質についてラット28日間反復投与試験を実施し、肝臓を採取、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。令和4年度は、2つの非遺伝毒性肝臓がん物質について、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、令和2年度は新たに14遺伝子モデルを、令和3年度は高感受性モデルを、令和4年度は、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）。

「遺伝毒性肝臓がん物質超短期検出法」について、令和2年度は、新たに「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。令和3年度は、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」1種類及び偽陰性になった遺伝毒性肝臓がん物質3種類について、投与用量を上げて再検討を実施した。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、遺伝毒性肝臓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臓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臓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、非遺伝毒性肝臓がん物質の検出（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）、PPAR α 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、PPAR α 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2年度は、優先評価化学物質を2物質含む、非遺伝毒性肝臓がん物質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。大阪公立大担当分として、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。

令和 3 年度は、優先評価化学物質かつ非遺伝毒性肝発がん物質である 5 物質含む、非遺伝毒性肝発がん物質 19 種および非発がん物質 1 種の合計 20 物質について検討した。また、感度の向上を目指し、令和 2 年度の一部物質について投与用量及び投与方法を変更して検討した。発がん物質は、過去の文献上で 4 週間投与時に最大投与量と推察される量を投与した。大阪公立大担当分として、非遺伝毒性肝発がん物質 6 種：TAA (45 mg/kg/day)、PB (100 mg/kg/day)、Methyl carbamate (MCB; 500 mg/kg/day)、1,4-D (1000 mg/kg/day)、Methyleugenol (MEG; 250 mg/kg/day)、2-Nitrotoluene (2NT; 300 mg/kg/day) を強制胃内投与した。香川大学担当分として、非遺伝毒性肝発がん物質 4 種：Chlorendic acid (CRA; 5 g/kg)、N,N-Dimethylformamide (DMF; 5 g/kg)、Bis(2-ethylhexyl) Phthalate (DEHP; 50 g/kg) を混餌投与、Poly(hexamethylenebiguanide) hydrochloride (PHMB; 2→1g/kg) 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 5 種：CFB (300 mg/kg/day)、Hexachlorobenzene (HCB; 300 mg/kg/day)、Wy-14643 (WY; 100 mg/kg/day)、Chlorobenzene (CB; 250 mg/kg/day) および Furan (30 mg/kg/day) 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 4 種：DL-ET (200 mg/kg/day)、DOX (200 mg/kg/day)、Methapyrilene hydrochloride (MP; 100 mg/kg/day)、Nitrobenzene (NB; 125→62.5 mg/kg/day) および非肝発がん物質 1 種：HCP (20 mg/kg/day) を強制胃内投与した。

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。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 (EGL; 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：Nitrilotriacetic 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 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 (鱧淵、魏)

実験 1 (令和 2 年度) では、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する試験を行った。被験物質に関する情報と投与濃度は表 1 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。

表 1. 令和 2 年度に検討した遺伝毒性肝発がん物質 (検出モデル-1)

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。

実験 2 (令和 3 年度) では、令和 2 年度に陰性と判定された 4 物質 (監視対象化学物質である DB-134、優先評価化学物質である OPD、既知の遺伝毒性肝発がん物質である Safrole 及び ADBAQ) を用いた。DB-134 及び ADBAQ の投与用量を令和 2 年度の 1000 mg/kg から 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 に上げた。OPD の投与用量を令和 2 年度の 170 mg/kg (1/3 of LD50) から 340 mg/kg (2/3 of LD50) 及び 510 mg/kg (LD50) に、Safrole の投与用量を令和 2 年度の 650 mg/kg (1/3 of LD50) から 1300 mg/kg

(2/3 of LD50)と1950 mg/kg (LD50)にそれぞれ上げた。なお、溶媒対照群(対照群)として0.5% MC投与群を設けた。

実験3(令和4年度)では、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2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OPD、既知の遺伝毒性肝発がん物質である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(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)に、2NP、Vinyl bromide(VB)、o-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2. 令和4年度に検討した遺伝毒性肝発がん物質(検出モデル2)

被検物質	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
o-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)

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3に示す。

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。

表3. DNA アダクトーム解析に使用した化学物質

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 (AA), Dimethylnitrosamine (DMN), 3'-Methyl-4-dimethylaminoazobenzene (MDA), 4,4'-Thiodianiline (TDA), N-Nitrosodiethylamine (NDEA), N-Nitrosodiethanolamine (NDELA), N-Nitrosoethylmethylamine (NEMA), Nitrosodibutylamine (NB), N-Nitrosopyrrolidine (NNP) 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 (PBZ), Promethazine (PMZ), Sulindac (SUL), Tetracycline (TC), Ethionamide (ETH) Thiopylline (TEO), Caffeine (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 (Cl-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), Retrosine (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 (CPP), Furosemide (FUR), Methylolpa (MDP), Methimazole (MTZ), Sulfasalazine (SS)
陽性対照 2-Nitropropane (2-NP)	陰性対照 Methyl cellulose (MC)

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)

令和2年度の動物実験において、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。

令和3年度の動物実験経過中、PHMB群において実験開始1週目に著明な体重減少が見られたため、以降は用量を2g/kgから1g/kgへ減量して投与することとした。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。MPH群は、17および28日目に1匹ずつ投与直後に全身痙攣を起こして死亡した。NB群は9日目において2匹にメトヘモグロビン血症と考えられる麻痺が出現し、10日目に1匹死亡したため、1日の休業後投与量を半量(62.5 mg/kg/day)に変更した。各物質を4週間投与後に屠殺・剖検した際に、TAA、MCB、2NT、DEHP、WY、CB、Furan、MP、DL-ET、NB群で有意な体重増加抑制を認めた。また、肝重量は、DEHP、CF、HCB、WY、Furan投与により、絶対及び相対肝重量が有意に増加した。MP、DL-ET投与により、絶対肝重量が有意に低下した。TAA、PB、1,4-D、2NT、CB、DOX、NB、HCP投与により相対肝重量が有意に増加した。採取された肝組織について検討した結果、TAA、PB、1,4-D、2NT、DMF、DEHP、CF、HCB、WY、CB、Furan、MP、DL-ET群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、MEG、CRA、PHMB、DOX、NB群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。

令和4年度の動物実験開始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た予測モデルを用いて、非遺伝毒性肝発がん物質の検出を行った。これまで検証した全ての89化学物質について、従来モデルおよび令和2～3年度に開発した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。

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)

従来モデルにおいて、特異度は100% (53/53) と高いものの、感度が39%(14/36)と低いため、令和2年度に非遺伝毒性肝発がん物質で特異的な発現変動を示す遺伝

子を選出した14遺伝子モデルを開発し検証したところ、感度53%(19/36)と向上した。しかしながら、まだ感度は5割近くと低いため、令和3年度に、高感受性モデルを開発し、感度が67%(24/36)と大幅な改善を認めた。しかしながら、特異度が下がっており改善が望まれ結果となった。

そこで令和4年度に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%(23/36)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%(50/53)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)

令和3年度に、令和2年度に用いた非遺伝毒性発がん物質の一部について、投与方法を強制胃内投与に変更した結果、従来モデルおよび14遺伝子モデルいずれも1物質陽性判定が増え、感度は上昇したものの大きな改善はされなかった(表6,7)。

表6. 投与方法および投与濃度変更による発がん性判定結果(従来モデル)

投与物質	略名	発がん性	令和2年		令和3年			
			投与方法・量	判定	判定	成否		
Thioacetamide	TAA	陽性	0.5g/kg diet	陽性	○	45 mg/kg ig	陽性	○
Phenobarbital, sodium	PB	陽性	0.5g/L drink	陰性	×	100 mg/kg ig	陽性	○
Chlorendic acid	CRA	陽性	1.25g/kg diet	陰性	×	5 g/kg diet	陰性	×
Clofibrate	CF	陽性	5g/kg diet	陽性	○	300 mg/kg ig	陽性	○
di-Ethionine	DL-ET	陽性	1g/kg diet	陰性	×	200 mg/kg ig	陰性	×
Doxylamine succinate	DOX	陽性	2g/kg diet	陰性	×	200 mg/kg ig	陰性	×
Hexachlorophene	HCP	陰性	0.15g/kg diet	陰性	○	20 mg/kg ig	陰性	○
1,4-Dioxane	1,4-D	陽性	5g/L drink	陰性	×	1000 mg/kg ig	陰性	×

表7. 投与方法および投与濃度変更による発がん性判定結果(14遺伝子モデル)

投与物質	略名	発がん性	令和2年		令和3年			
			投与方法・量	判定	判定	成否		
Thioacetamide	TAA	陽性	0.5g/kg diet	陽性	○	45 mg/kg ig	陽性	○
Phenobarbital, sodium	PB	陽性	0.5g/L drink	陽性	○	100 mg/kg ig	陽性	○
Chlorendic acid	CRA	陽性	1.25g/kg diet	陽性	○	5 g/kg diet	陽性	○
Clofibrate	CF	陽性	5g/kg diet	陽性	○	300 mg/kg ig	陽性	○
di-Ethionine	DL-ET	陽性	1g/kg diet	陰性	×	200 mg/kg ig	陰性	×
Doxylamine succinate	DOX	陽性	2g/kg diet	陰性	×	200 mg/kg ig	陽性	○
Hexachlorophene	HCP	陰性	0.15g/kg diet	陰性	○	20 mg/kg ig	陰性	○
1,4-Dioxane	1,4-D	陽性	5g/L drink	陰性	×	1000 mg/kg ig	陰性	×

表8. 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	×	×	○	○	○	○
14遺伝子モデル	×	×	○	○	○	○
高感受性モデル	○	○	○	○	○	○
機序別統合モデル	×	×	○	○	○	○

令和4年度は、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8)。

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)

1) 実験1(令和2年度)

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-1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1)。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であるDB-134は「陰性」と判定された。

2) 実験2(令和3年度)

取得した遺伝子発現データを検出モデル-1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。その結果、本年度に検討した4物質(DB-134、OPD、Safrole及びADBAQ)はすべて「陰性」と判定された。

3) 実験3(令和4年度)

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(表2)。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-2が確立できた。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)

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9)。

表9. 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。

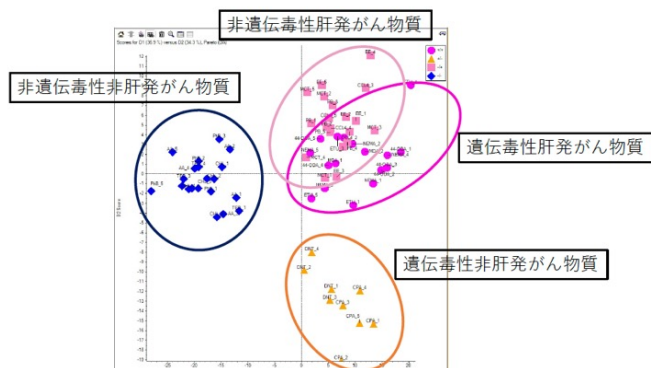


図1. 遺伝毒性肝発がん物質/遺伝毒性非肝発がん物質/非遺伝毒性肝発がん物質/非遺伝毒性非肝発がん物質の肝臓におけるDNA損傷性の評価(LDA解析による)

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10)。

表10. 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-+	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				

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。

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LOOCVの検討を実施した。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（図2、表11）。

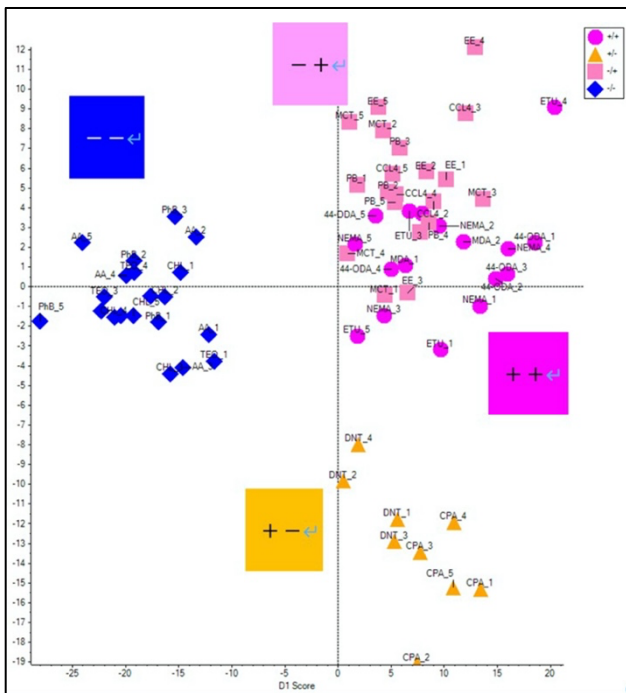


図2. 遺伝毒性肝発がん物質/遺伝毒性非肝発がん物質/非遺伝毒性肝発がん物質/非遺伝毒性非肝発がん物質の肝臓におけるDNA損傷性の評価（PCA-DAによる）

表11. 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	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				

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%）。毒性的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3）でクラスターの一部が重なった「-+」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12）。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。

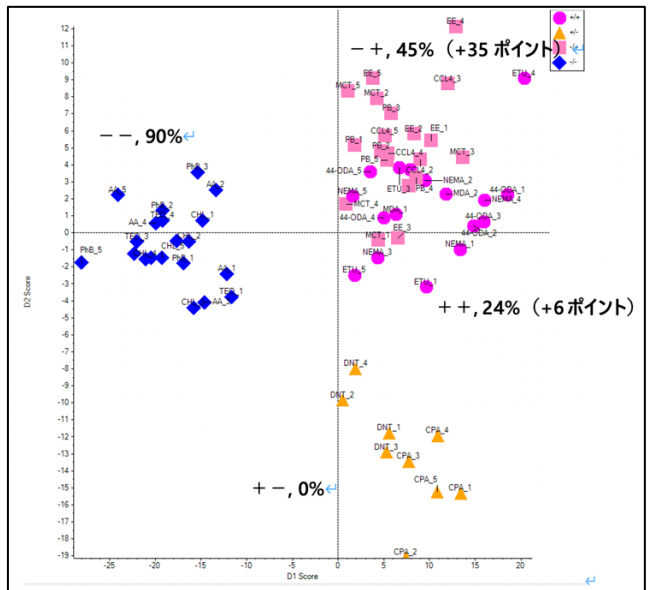


図3. サンプル毎の分類クラス別正答率。括弧内の数値は物質毎の正答率からの変化

表12. 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	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
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				

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13）。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 13. 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 14)。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 14. 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)。

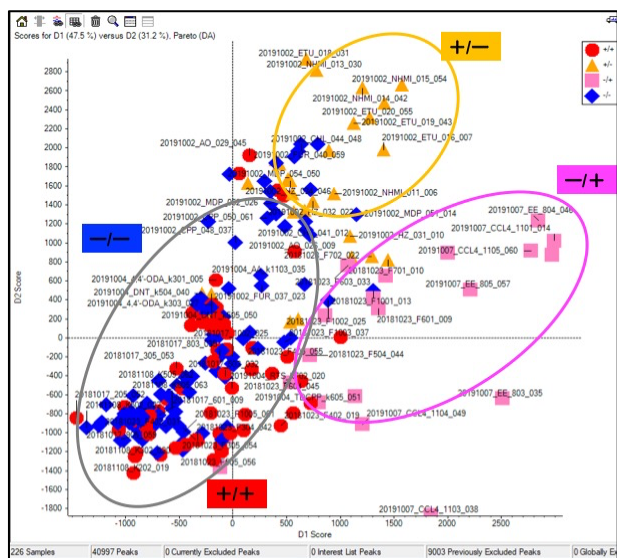


図 4. 5-methyl-dC による標準化と PCA-DA 解析

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)。

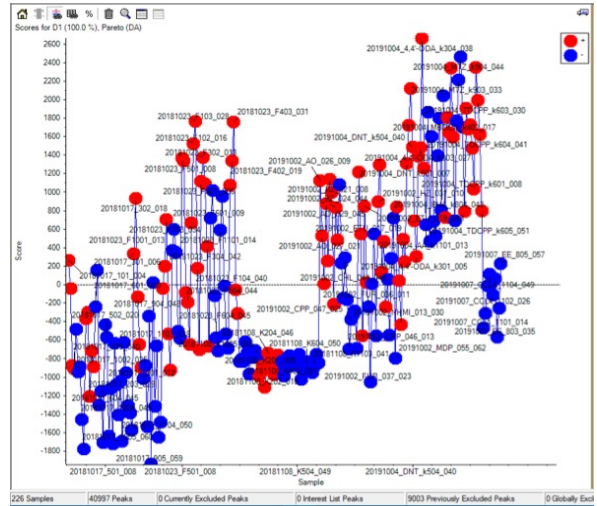


図 5. 遺伝毒性の有無による分類

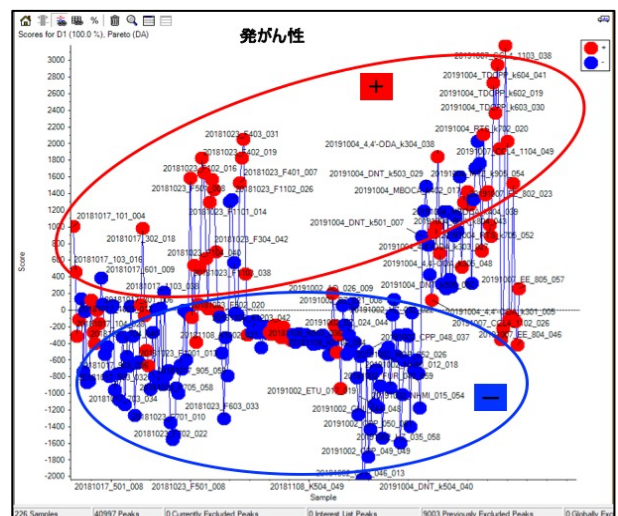


図 6. 発がん性の有無による分類

D. 考察

令和2~4年度に動物実験を行い新たに解析した32物質およびOpen TG-GATEに登録されている57物質の合計89物質について、従来モデルでは特異度100%である一方、感度が4割近くと低い結果であった。令和2年度に開発した14遺伝子モデルで感度が向上したものの、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。令和3年度には感度の改善を目指し、高感受性モデルを開発し67%と感度向上を認めたものの、特異度が83%と低下しており改善する必要がある。令和4年度に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作成した機序別統合モデルは、高感受性モデルに近い感度64%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(94%)が得られ、高精度のモデルが開発でき

たとえられる。

また、令和3年度に一部の非遺伝毒性肝発がん物質について投与濃度や投与量を変更し再検討した結果、一部で陽性判定が増えたものの、大きな改善には至らなかった。令和4年度に行っ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。

我々が構築した検出モデル-1は遺伝毒性肝発がん物質を、感度83%、特異度95%、正答率90%の精度で検出できることが示された。一方、遺伝毒性肝発がん物質であるOPD、Safrole及びADBAQが2000 mg/kgあるいはLD50用量においても、「陰性」と判定されたことから、検出モデル-1の検出力に限界がある可能性が示された。

新たに作成した検出モデル-2において、これまでに検出モデル-1を用いた検討において、偽陰性となった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、今までの検出モデル-1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モデル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はいずれのモデルにおいても「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ことが明らかになった。

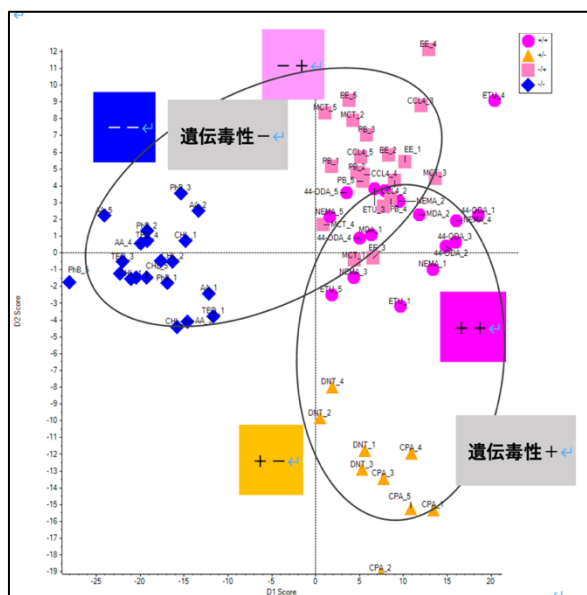


図7. 2021年度測定データのPCA-DA (遺伝毒性)

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では「-」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。

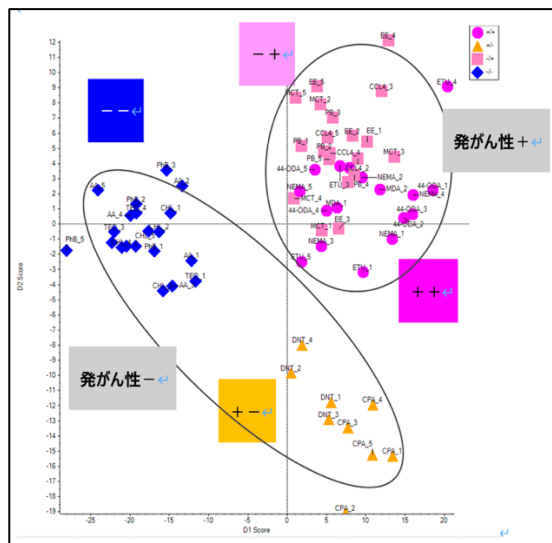


図8. 2021年度測定データのPCA-DA (発がん性)

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

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。令和4年度に作成した機序別統合モデルは、令和2~3年度に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) 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.
- 3) 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.
- 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. FXP3 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; doi.org/10.1007/s00432-022-04394-3.
 - 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.
 - 30) Yokohira M, Oshima M, Yamakawa K, Ye J, Nakano-Narusawa Y, Haba R, Fukumura Y, Hirabayashi K, Yamaguchi H, Kojima M, Okano K, Suzuki Y, Matsuda Y. Adequate tissue sampling for the assessment of pathological tumor regression in pancreatic cancer. *Sci Rep.* 2021; 11: 6586.
 - 31) 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- μ m aerosol of ciclesonide by desorption electrospray ionization-time of flight mass spectrometry imaging. *Int J Pharm.* 2021; 595: 120241.
- 32) 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.
 - 33) 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.
 - 34) 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.
 - 35) 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.
 - 36) Totsuka Y, Watanabe M, Lin Y. New horizons of DNA adductome for exploring environmental causes of cancer. *Cancer Sci.* 2021; 112: 7-15.
 - 37) 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.
 - 38) Tagami M, Kakehashi A, Sakai A, Misawa N, Katsuyama-Yoshikawa A, Wanibuchi H, Azumi A, Honda S. Expression of thrombospondin-1 in conjunctival squamous cell carcinoma is correlated to the Ki67 index and associated with progression-free survival. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2021; 259: 3127-36.
 - 39) 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.
 - 40) Subhawa S, Naiki-Ito A, Kato H, Naiki T, Komura M, Nagano-Matsuo A, Yeewa R, Inaguma S, Chewonarin T, Banjerdpongchai R, Takahashi S. Suppressive Effect and Molecular Mechanism of *Houttuynia cordata* Thunb. Extract against Prostate Carcinogenesis and Castration-Resistant Prostate Cancer. *Cancers (Basel).* 2021; 13.
 - 41) Shimizu K, Gi M, Suzuki S, North BJ, Watahiki A, Fukumoto S, Asara JM, Tokunaga F, Wei W, Inuzuka H. Interplay between protein acetylation and ubiquitination controls MCL1 protein stability. *Cell Rep.* 2021; 37: 109988.
 - 42) 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.
 - 43) Nakano-Narusawa Y, Yokohira M, Yamakawa K, Ye J, Tanimoto M, Wu L, Mukai Y, Imaida K, Matsuda Y. Relationship between Lung Carcinogenesis and Chronic Inflammation in Rodents. *Cancers (Basel).* 2021; 13.
 - 44) 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; 479: 277-84.
 - 45) 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.
 - 46) 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.
 - 47) 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.
 - 48) 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.
- 49) 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.
- 50) Komiya M, Ishigamori 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.
- 51) 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.
- 52) Kawata K, Baba A, Shiota M, Wanibuchi H, Baba Y. ER membrane protein complex 1 interacts with STIM1 and regulates store-operated Ca²⁺ entry. *J Biochem.* 2021; 170: 483-8.
- 53) 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; 42: 940-50.
- 54) Kakehashi A, Suzuki S, Shiota M, Raymo N, Gi M, Tachibana T, Stefanov V, Wanibuchi H. Canopy Homolog 2 as a Novel Molecular Target in Hepatocarcinogenesis. *Cancers (Basel).* 2021; 13: 3613.
- 55) 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: 1216.
- 56) Kachi K, Kato H, Naiki-Ito A, Komura M, Nagano-Matsuo A, Naitoh I, Hayashi K, Kataoka H, Inaguma S, Takahashi S. Anti-Allergic Drug Suppressed Pancreatic Carcinogenesis via Down-Regulation of Cellular Proliferation. *Int J Mol Sci.* 2021; 22.
- 57) Iwase T, Yoshida M, Iwasaki Y, Suzuki S, Yabata H, Koizumi R, Moriyoshi H, Yazawa I. Selective extension of cerebral vascular calcification in an autopsy case of Fahr's syndrome associated with asymptomatic hypoparathyroidism. *Neuropathology.* 2021; 41: 387-95.
- 58) Isobe T, Naiki T, Naiki-Ito A, Kawai T, Etani T, Nagai T, Nozaki S, Kobayakawa Y, Iwatsuki S, Matsuyama N, Kato H, Kawai N, Yasui T. Rare case of immunoglobulin G4-related disease arising in gonadal glands with long-term remission without steroid treatment: Discussion and literature review. *IJU Case Rep.* 2021; 4: 188-91.
- 59) Aoyama Y, Naiki-Ito A, Xiaochen K, Komura M, Kato H, Nagayasu Y, Inaguma S, Tsuda H, Tomita M, Matsuo Y, Takiguchi S, Takahashi S. Lactoferrin Prevents Hepatic Injury and Fibrosis via the Inhibition of NF-kappaB Signaling in a Rat Non-Alcoholic Steatohepatitis Model. *Nutrients.* 2021; 14.
- 60) 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.
- 61) 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.
- 62) 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.
- 63) 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.
- 64) 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.
- 65) 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.
- 66) 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.
- 67) 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.
- 68) 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.
- 69) Nozaki S, Naiki T, Naiki-Ito A, Iwatsuki S, Takeda T, Etani T, Nagai T, Iida K, Kato H, Suzuki T, Takahashi S, Umemoto Y, Yasui T. Selective lysine-specific demethylase 1 inhibitor, NCL1, could cause testicular toxicity via the regulation of apoptosis. *Andrology*. 2020; 8: 1895-906.
- 70) Nakano-Narusawa Y, Yokohira M, Yamakawa K, Saoo K, Imaida K, Matsuda Y. Single Intratracheal Quartz Instillation Induced Chronic Inflammation and Tumorigenesis in Rat Lungs. *Sci Rep*. 2020; 10: 6647.
- 71) 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.
- 72) 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.
- 73) 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.
- 74) 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.
- 75) Mapoung S, Suzuki S, Fuji S, Naiki-Ito A, Kato H, Yodkeeree S, Sakorn N, Ovattarnporn 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.
- 76) 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.
- 77) 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.
- 78) 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.
- 79) 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.
- 80) 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.
- 81) 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.
- 82) 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.
2. 学会発表
- 1) 鰐淵英機、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、鰐淵英機、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、鰐淵英機、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、鰐淵英機. 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、鰐淵英機. 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、鰐淵英機. 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) 鰐淵英機. 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、鰐淵英機、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、鰐淵英機. 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、鰐淵英機. 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 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)
 - 13) 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、葩島由二. 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 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. エラグ酸の膀胱癌抑制効果と膀胱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 発現を低下させ膀胱癌を抑制する. 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)
- 32) 鈴木周五、魏民、鰐淵英機。Luteolin によるニコチン誘発ラット膀胱増殖性病変抑制効果。第 110 回日本病理学会総会、東京 (2021 年 4 月)
- 33) 加藤寛之、内木綾、小村理行、高橋智。エラグ酸の膀胱癌抑制効果の検討。第 110 回日本病理学会総会、東京 (2021 年 4 月)
- 34) 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、斎藤嘉朗、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、Web 開催 (2021 年 5 月)
- 35) 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)
- 36) 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)
- 37) 藤岡正喜、梯アンナ、魏民、鰐淵英機。アグリコン型イソフラボンによるホルモン活性が Donryu ラットにおける乳がんおよび子宮内膜がんの発生を促進する。日本食品化学学会第 27 回総会・学術大会、Web 開催 (2021 年 6 月)
- 38) 梯アンナ、藤岡正喜、魏民、鰐淵英機。Pueraria mirifica のエストロゲン作用による Donryu ラットにおける乳がんの発生。日本食品化学学会第 27 回総会・学術大会、Web 開催 (2021 年 6 月)
- 39) 加藤寛之、内木綾。STAT3-DPYD 経路を介した Luteolin の膀胱癌化学予防効果の検討。日本食品化学学会第 27 回総会・学術大会、Web 開催 (2021 年 6 月)
- 40) 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)
- 41) 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芳香族アミン類による尿中代謝物と膀胱尿路上皮影響の関係。第 48 回日本毒性学会学術年会、神戸 (2021 年 7 月)
- 42) 魏民、鈴木周五、藤岡正喜、鰐淵英機。遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法の確立。第 48 回日本毒性学会学術年会、神戸 (2021 年 7 月)
- 43) 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。 γ -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)
- 44) 赤木純一、曹永晚、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)
- 45) 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)
- 46) 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)
- 47) 藤岡正喜、魏民、鈴木周五、大石裕司、梯アンナ、鰐淵英機。有機ヒ素化合物 DPAA のマウス経胎盤曝露による次世代に対する発がん影響及びその機序の検討。2021 年度新学術領域研究「学術研究支援基盤形成【先端モデル動物支援プラットフォーム (AdAMS)】」若手支援技術講習会、Web 開催 (2021 年 9 月)
- 48) 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、斎藤嘉朗、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)
- 49) 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)
- 50) 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)
- 51) 藤岡正喜、魏民、鈴木周五、大石裕司、山口貴嗣、松江泰佑、梯アンナ、鰐淵英機。ジフェニルアル

- シン酸のマウス経胎盤ばく露による発がん性の検討. 第80回日本癌学会学術総会、横浜 (2021年9月)
- 52) 鈴木周五、魏民、藤岡正喜、梯アンナ、鰐淵英機. 職業性ばく露香料アミン類による膀胱尿路上皮への影響と尿中代謝物の関係. 第80回日本癌学会学術総会、横浜 (2021年10月)
- 53) 魏民、鈴木周五、藤岡正喜、梯アンナ、鰐淵英機. 遺伝毒性肝発がん物質超短期検出法の確立. 第80回日本癌学会学術総会、横浜 (2021年10月)
- 54) 梯アンナ、鈴木周五、藤岡正喜、魏民、鰐淵英機. 肝発がんにおける特異的候補分子としてCNPY2の役割. 第80回日本癌学会学術総会、横浜 (2021年10月)
- 55) 豊田武士、赤根弘敏、小川久美子. γ -H2AX 免疫染色によるラット腎発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)
- 56) 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 γ -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)
- 57) 加藤寛之、内木綾、稲熊真悟、小村理行、高橋智. DPYD regulation in pancreatic cancer cell. 第80回日本癌学会学術総会、横浜 (2021年10月)
- 58) 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)
- 59) 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、戸塚ゆ加里、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)
- 60) 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)
- 61) 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)
- 62) 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)
- 63) 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の膀胱尿路上皮への影響及び尿中代謝物との関係. 第38回日本毒性病理学会総会・第1回アジア毒性病理学連盟学術集会、神戸 (2022年1月)
- 64) 魏民、鈴木周五、藤岡正喜、鰐淵英機. 1,4-ジオキサンのin vivo変異原性及び発がん性の定量解析. 第38回日本毒性病理学会総会・第1回アジア毒性病理学連盟学術集会、神戸 (2022年1月)
- 65) 藤岡正喜、魏民、鈴木周五、梯アンナ、大石裕司、山口貴嗣、鰐淵英機. 有機ヒ素化合物DPAAのマウス経胎盤曝露による次世代に対する発がん影響及びその機序の検討. 第38回日本毒性病理学会総会・第1回アジア毒性病理学連盟学術集会、神戸 (2022年1月)
- 66) 西土井悠作、鈴木周五、魏民、梯アンナ、松江泰佑、鰐淵英機. 肺組織におけるタバコの短期曝露による初期反応バイオマーカーの探索. 第38回日本毒性病理学会総会・第1回アジア毒性病理学連盟学術集会、神戸 (2022年1月)
- 67) 松江泰佑、魏民、塩田正之、鈴木周五、藤岡正喜、梯アンナ、内田潤次、鰐淵英機. 炭酸脱水素酵素阻害剤AcetazolamideのWnt/ β カテニンシグナル経路抑制を介した膀胱癌浸潤抑制効果. 第38回日本毒性病理学会総会・第1回アジア毒性病理学連盟学術集会、神戸 (2022年1月)
- 68) 梯アンナ、鰐淵英機. NAFLD/NASH 肝発がんの促進機序への最近の洞察. 第38回日本毒性病理学会総会・第1回アジア毒性病理学連盟学術集会、神戸 (2022年1月)
- 69) 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)
- 70) 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)
- 71) 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)
- 72) 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)
- 73) 加藤寛之、内木綾、小村理行、高橋智. 膀胱におけるDPYD発現の寄与と発現抑制機序の検討. 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)
- 74) 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)
- 75) 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)
- 76) 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)
- 77) 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)
- 78) 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剖検例. 第111回日本病理学会総会、神戸 (2022年4月)
- 79) 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)
- 80) 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)
- 81) 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)
- 82) 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)
- 83) 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)
- 84) 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)
- 85) 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)
- 86) 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)
- 87) 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)
- 88) 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)
- 89) 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)
- 90) 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)
- 91) 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)
- 92) 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)
- 93) 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)
- 94) 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)
- 95) Totsuka Y. New horizons of DNA adductome for exploring environmental causes of cancer. 13th International Conference on Environmental Mutagens, Ottawa (2022年8月)
- 96) 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)
- 97) 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)
- 98) 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)
- 99) 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)
- 100) 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)

- 101) 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)
- 102) 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)
- 103) 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)
- 104) 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)
- 105) 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)
- 106) 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)
- 107) 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)
- 108) 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)
- 109) 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)
- 110) 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)
- 111) 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)
- 112) 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)
- 113) 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、相村春彦、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)
- 114) 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)
- 115) 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)
- 116) 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)
- 117) 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)
- 118) 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)
- 119) 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)
- 120) 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)
- 121) 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)
- 122) 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)
- 123) 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)
- 124) 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)

- 125) 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. ヒト浸潤性膀胱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)
- 126) Guiyu Qiu、梯アンナ、鈴木周五、藤岡正喜、鰐淵英機. ヒト浸潤性膀胱癌における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)
- 127) 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)
- 128) 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)
- 129) 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)
- 130) 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)
- 131) 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)
- 132) 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)
- 133) 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)
- 134) 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)
- 135) 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)
- 136) 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)
- 137) 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