

研究課題名：香料を含む食品添加物の遺伝毒性から発がんに至る毒性評価スキーム  
確立に向けた基盤的研究

研究代表者： 杉山圭一 国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部 部長

## 研究要旨

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

Ames 試験が実施されているフラン骨格を有する香料 12 物質の QSAR 解析と、カルボニル基とフラン骨格を有する香料様 6 物質の Ames 実試験と QSAR 予測結果との比較を行った。知識ベースと統計ベースの 2 種類の QSAR を使用した。Ames 実試験と QSAR 予測は一致するとは限らないが、構造に注目した考察を行い、QSAR の予測精度向上に資する知見が得られた。チミジンキナーゼ (*TK*) 遺伝子突然変異試験をプラットフォームとして、エピジェネティックな変化を定量可能な新規試験法の構築を行った。*TK* 遺伝子をエピジェネティックに不活化した改良型試験細胞株 LmTK6 を樹立し、DNA メチル化酵素阻害剤 5-*aza*-deoxycytidine および試験溶媒 DMSO が引き起こす DNA メチル化状態の変動を定量することに成功した。Ames/QSAR 予測は、もともと Ames 試験が持つ問題点を引き継いでいる可能性がある。本研究では、Ames/QSAR 予測で陽性、かつ Ames 試験において最も顕著に陽性を示した条件下（非代謝あるいは活性化）に焦点を絞り、香料物質 4 種についてヒトリンパ芽球細胞を用いる *TK* 遺伝子変異試験 (*TK6* 試験) で調べた。その結果、4 陽性物質のうち 1 物質が陰性と判定された。本研究期間では、陰性結果となった物質の代謝活性化条件下は未実施であり、引き続きフォローアップ試験として *TK6* 試験の有用性を検討する必要がある。*In vivo* 遺伝毒性試験の特徴と課題に関して、遺伝毒性試験法の専門家による国際会議に参加して情報収集を行った。骨髄小核試験、肝臓小核試験、コメット試験、*Pig-a* 試験、TGR 試験についてフォローアップ試験としての課題を検討した。遺伝毒性の定量的評価に関して、*in vivo* 遺伝毒性試験の用量反応データを用いたベンチマークドーズ (BMD) 法による量的解析の検討を行った。BMD 法の国内ワークショップを実施した。ゲノム解析を用いた新規の突然変異検出法の技術的予備検討を行った。本研究では、香料の毒性評価スキームにおける *in vivo* 試験として、*gpt delta* ラットを用いた一般毒性・遺伝毒性・発がん性包括試験の有用性を検討するため、本法を用いた 2-isopropyl-N-2, 3-trimethylbutyramide (ITB) の包括的評価を実施した。用量設定試験では、500 mg/kg 群で血清の肝毒性パラメーターが有意に上昇し、20 mg/kg 群から肝細胞の空胞変性が認められたことから、本試験における投与量は 5、50 又

は 500 mg/kg 体重/日とした。本試験では雄性 *gpt delta* ラットに ITB を 13 週間強制経口投与した結果、肝重量の増加及び ALT の有意な上昇は 50 mg/kg 群から認められた。今後、全身諸臓器の病理組織学的検索を実施し、ITB の一般毒性について評価する。階層的評価における *in vivo* 評価系としての遺伝毒性・発がん性中期包括試験の有用性を検討するため、*in silico* および *in vitro* で遺伝毒性が明らかになった香料を対象として本法を用いた評価を行う。本年度は 6-methoxyquinoline (6-MQ) を被験物質として遺伝毒性・発がん性中期包括試験の用量設定試験を実施した。6-MQ の 28 日間経口投与試験の結果、1000 mg/kg 投与群では全例が死亡した。500 mg/kg 投与群では肝重量の増加と肝細胞肥大及び空胞変性が観察された。この結果より、本試験は肝臓を標的とした肝遺伝毒性・発がん性中期包括試験 (GPG モデル) を実施することとし、投与用量は最大耐量の 500 mg/kg 体重/日に設定した。

## 研究分担者

本間正充	国立医薬品食品衛生研究所 副所長
安井 学	国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部 室長
増村健一	国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部 室長
古濱彩子	国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部 主任研究官
石井雄二	国立医薬品食品衛生研究所 病理部 室長
高須伸二	国立医薬品食品衛生研究所 病理部 主任研究官
小川久美子	国立医薬品食品衛生研究所 病理部 部長
佐々 彰	国立大学法人千葉大学 大学院理学研究院生物学研究部門 特任助教

### A. 研究目的

本研究では、近年開発が進む Ames 変異原性を予測する定量的構造活性相関 (QSAR) モデル (Ames/QSAR)、Ames 実試験さらにはその他各種遺伝毒性試験、また発がん性短期包括試験法を階層的に組み合わせることにより、ヒト健康影響において重要なリスクファクターとされる遺伝毒性及び発がん性を効率的に評価するスキームの確立に向けた基盤研究を推進する。特に、発がん性については遺伝毒性の疑いなどから国際的にも追加の毒性情報が求められている被験物質、もしくは *in silico*、*in vitro* で遺伝毒性が疑われた物質について包括的毒性試験を実施することで、安全性評価に資するデータの提供を図る。本研究ではさらに、近年新たなリスクとしてその毒性評価方法の確立が望まれているゲノムクロマチン構造のかく乱を起因とする毒性、いわゆるエピジェネティックな毒性の検出方法の開発にも取り組む。ゲノム不安定性を惹起し発がんを促進

することに関し近年多くのエビデンスが蓄積されているエピジェネティックなかく乱作用は、香料を含む食品添加物など化学物質による発がん予測の精緻化に寄与すると考えられ、すでに申請者が構築済みの酵母凝集性を指標としたアッセイ系 (FLO assay) の活用は本研究の独自性と新規性をさらに高めるものである。最終的には、OECD が提唱する「化学物質と生体の相互作用から個体での毒性発現までのメカニズムを関連づけて説明する手法 (Adverse Outcome Pathway ; AOP)」を取り入れた効率的でかつ標準化に資する新規な遺伝毒性・発がん性包括試験法の開発を目指す。本研究班は上記の目的を達成するため、以下の研究に取り組んだ。

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

遺伝毒性スクリーニング評価には、*in silico* や *in vitro* 手法の活用が効率的である。Ames 試験はその中心を担っている一方で、Ames 予測のための QSAR モデルの活用が進んでいることから、香料等における Ames/QSAR の活用スキーム提案に資する研究を行う。また、新たな遺伝毒性研究の分野としてゲノムのエピジェネティックな変化を介し発がんが促進されることも明らかにされつつあり、香料等の食品添加物によるゲノム不安定性からの発がん予測としての新たな *in vitro* 試験系の構築も待たれている。そこで、*in vitro* 遺伝子突然変異試験をプラットフォームとして、哺乳類細胞も活用したエピジェネティックな変化を検出定量する新規試験法の構築も検討する。

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

Ames/QSAR 予測は、Ames 試験結果データを基にトレーニング・開発されており、もともと Ames 試験が持つ問題点を Ames/QSAR にも引き

継いでいる可能性がある。よって本研究では、Ames/QSAR 予測で陽性、かつ Ames 試験において最も顕著に陽性を示した条件下（非代謝あるいは活性化）に焦点を絞り、4つの香料物質について上位試験であるヒトリンパ芽球細胞 TK6 株を用いるチミジンキナーゼ遺伝子変異試験（TK6 試験）で調べる。

### A-3. 遺伝毒性発がんリスク評価のための *in vivo* フォローアップ試験スキーム（杉山、本間、増村）

遺伝毒性発がんリスク評価において、*in vitro* 遺伝毒性試験の陽性結果のフォローアップとして実施される *in vivo* 遺伝毒性試験には複数の選択肢があるが、試験デザインやエンドポイントが異なるため試験の統合に課題がある。遺伝毒性試験の専門家による国際会議に参加して情報収集を行い、各試験の特性と標的組織を考慮したフォローアップ試験の選択法を検討する。また、新規変異原性試験として期待されるゲノム解析を用いた突然変異検出法の技術的予備検討を行う。

### A-4. 香料の毒性評価スキームにおける一般毒性・遺伝毒性・発がん性短期包括試験の有用性評価（小川、石井、高須）

本研究事業において開発を進める香料の毒性評価スキームにおける *in vivo* 試験として、*gpt* delta ラットを用いた一般毒性・遺伝毒性・発がん性包括試験の有用性を検討するため、JECFA で登録されている食品香料または過去に登録されていた香料の中からヒト健康影響が懸念される 2-isopropyl-N-2, 3-trimethylbutyramide (ITB) について本法による評価を実施する。本年度は、用量設定試験及び本試験の動物実験を実施した。

### A-5. 肝又は腎遺伝毒性・発がん性中期包括試験（GPG 又は GNP モデル）に関する研究（小川、石井、高須）

階層的評価における *in vivo* 評価系としての遺伝毒性・発がん性中期包括試験の有用性を検討することを目的に、*in silico* および *in vitro* で遺伝毒性が明らかになった 6-methoxyquinoline

(6-MQ) を被験物質として遺伝毒性・発がん性中期包括試験による *in vivo* での評価を実施する。今年度は用量設定試験を実施し、6-MQ の標的臓器ならびに最大耐量を検討するとともに本試験の条件を設定した。

## **B. 研究方法**

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

#### B1-1. Ames/QSAR を含む香料の遺伝毒性評価

フラン骨格を有する物質に着目し、12 香料の報告済 Ames 試験結果と 2 種類の QSAR [知識ベース DEREK Nexus (Lhasa Ltd.); 統計ベース CASE Ultra, GT1\_BMUT (MultiCASE Inc. )] 予測結果を用いた解析を行った。CaseUltra の Inconclusive は、陽性とみなした。更に、カルボニル基とフラン骨格を有する香料様 6 物質に対し Ames 試験と QSAR 解析を行った。

#### B1-2. ヒト細胞を用いたエピ遺伝毒性試験の実施

CRISPR/dCas9-DNMT3A DNA メチル化システムを用いて、TK 遺伝子をエピジェネティックに不活化制御したヒト B リンパ芽球細胞 mTK6 株を利用した。被験物質を曝露した mTK6 に aminopterin を添加して 96 穴プレートに播種し、DNA メチル化変化による薬剤耐性コロニー数から TK 復帰頻度を定量することでエピ遺伝毒性を評価した。

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

TK6 試験は、原則として OECD ガイドライン (TG490) に従って行った。処理細胞数は  $10^7$  細胞、処理時間は 4 時間で実施した。Ames/QSAR 予測の陽性物質として、非代謝活性化 (-S9 条件下) は 4-メチル-2-ペンテナール、代謝活性化条件下 (+S9 条件下) は 4-メトキシシナミルアルデ

ヒド、6-メトキシキノリン、2-メチルキノリンで実施した。TK6 試験の本試験の陰性対照群は2系列、処理群は1系列で実施した。結果判定のための統計解析は、大森法 (Omori et al., *Mutat. Res.* 517,199-208 (2002)) を用いた。

### B-3. 遺伝毒性発がんリスク評価のための *in vivo* フォローアップ試験スキーム (杉山、本間、増村)

Health and Environmental Sciences Institute (HESI) の Genetic Toxicology Technical Committee (GTTC) の年次会議および International Workshops on Genotoxicity Testing (IWGT2022) に向けた *in vivo* genotoxicity test strategies WG の準備会議に参加し、*in vivo* 遺伝毒性試験の課題について議論した。BMD 法を用いた *in vivo* 遺伝毒性の量的評価手法について検討するため、日本環境変異原ゲノム学会 MMS 研究会定例会にてワークショップを実施した。ゲノム解析を用いた突然変異検出法 (errorr-corrected sequencing: ECS) に関して技術的検討を行い、基礎データを取得した。

### B-4. 香料の毒性評価スキームにおける一般毒性・遺伝毒性・発がん性短期包括試験の有用性評価 (小川、石井、高須)

用量設定試験では、6 週齢の雄性 F344 ラットに ITB を 20、100 又は 500 mg/kg 体重/日の用量で 28 日間強制経口投与した。投与終了後、ITB の毒性標的臓器である肝臓および腎臓の重量測定ならびに病理組織学的検査を実施した。本試験では 6 週齢の雄性 *gpt delta* ラットに ITB を 5、50 又は 500 mg/kg 体重/日の用量で 13 週間強制経口投与した。投与終了後、臓器重量測定、血液学的検査及び血清生化学検査を実施した。

### B-5. 肝又は腎遺伝毒性・発がん性中期包括試験 (GPG 又は GNP モデル) に関する研究 (小川、石井、高須)

6 週齢の雄性 F344 ラットにコーン油に混じた 6-MQ を 125、250 又は 500 および 1000 mg/kg

体重/日の用量で 28 日間強制経口投与した。投与終了後、肝臓および腎臓の重量測定ならびに病理組織学的検査を実施した。

### (倫理面への配慮)

動物実験の実施に際しては、各研究施設の規定に従って動物実験倫理委員会の承認を得た後に実施し、実験動物に対する動物愛護に関して十分配慮して行った。また、遺伝子組換え実験については、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律等、遺伝子組換え生物等の第二種使用等に当たって執るべき拡散防止措置等を定める法令に則り、機関承認を得た後に実施した。

## C. 研究結果

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

#### C1-1. Ames/QSAR を含む香料の遺伝毒性評価

12 香料は、6 陽性、5 陰性、1 Inconclusive の報告で、知識ベースは 6/12 物質、統計ベースは 8/12 物質で陽性・陰性判定が不一致だった。6 物質の Ames 試験結果は、2 陽性、4 陰性であり、知識ベースと実試験結果は全一致、統計ベースは 4 物質で不一致だった。

#### C1-2. ヒト細胞を用いたエピ遺伝毒性試験の実施

背景値である TK 自然復帰頻度を低減させた改良株 LmTK6 を用いて試験を行った。①1% DMSO で 24 時間処理した場合、TK 復帰頻度は DMSO 処理群で有意に低下した。②DNA メチル化阻害剤 5-aza-dC について、0.05  $\mu$ M 24 時間処理で最大 289 倍の TK 復帰頻度の上昇が観察された。③ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤 Trichostatin A および Vorinostat の曝露による TK 復帰頻度の変化はみられなかった。

### C-2. 細胞を用いた *in vitro* 遺伝毒性試験による

#### 遺伝毒性評価の精緻化 (杉山、本間、安井) :

4-メトキシシナミルアルデヒド、6-メトキシキノリン、2-メチルキノリンは陽性（代謝活性化条件下のみ実施）であった。一方、4-メチル-2-ペンテナールは陰性（非代謝活性化条件下のみ実施）だった。TK6 試験は、4つの陽性物質のうち4-メチル-2-ペンテナールが陰性と判定した。本研究期間では4-メチル-2-ペンテナールの代謝活性化条件下は未実施である。

#### C-3. 遺伝毒性発がんリスク評価のための *in vivo* フォローアップ試験スキーム (杉山、本間、増村)

GTTCにおいて、コメント試験のガイダンスを作成する方針が示された。*Pig-a* 遺伝子突然変異試験はOECD TGが作成中であり、トランスジェニック動物遺伝子突然変異試験 (TGR 試験) など既存の *in vivo* 試験とのハーモナイズが一部検討されている。BMD 法に関しては、遺伝毒性試験に適した *critical effect size* (CES)の設定が課題であることが示された。IWGTの *in vivo* WG 準備会議において、肝小核試験の有用性と投与時週齢の影響が議論された。日本環境変異原ゲノム学会 MMS 研究会において BMD 法ワークショップを実施した。ECS 法の予備検討としてマウス DNA を用いて変異検出の試行を行った。

#### C-4. 香料の毒性評価スキームにおける一般毒性・遺伝毒性・発がん性短期包括試験の有用性評価 (小川、石井、高須)

用量設定試験では、20 mg/kg 群から肝細胞の空胞変性が認められ、500 mg/kg 群では血清 AST、ALT 及び ALP が有意に上昇した。また、全ての投与群において ITB の初回投与後に神経症状が見られたものの、2日目以降は軽減または消失した。本試験においても、50 mg/kg 以上の群では用量設定試験と同様の神経症状が認められた。また、肝重量の増加及び ALT の有意な上昇は 50 mg/kg 群から認められた。

#### C-5. 肝又は腎遺伝毒性・発がん性中期包括試験

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

1000 mg/kg 投与群の全例が投与開始2日目までに死亡した。一方、500 mg/kg 投与群では一般状態および体重推移の変化は認められなかった。125 mg/kg 以上の投与群において肝および腎重量は有意に増加した。病理組織学的検査の結果、500 mg/kg 投与群の肝臓において、びまん性肝細胞肥大ならびに小葉中心性肝細胞空胞化が認められた。

#### D. 考 察

Ames/QSAR を含む香料の遺伝毒性評価の解析では、加水分解等により 3,4-Dihydroxyfuran を成す物質は陽性だった。フルフラール類は陰性だが、ジケトンをも有すると陽性となった。これら知見に加えて、フラン骨格2位に炭素をも有する構造の特徴も、陰性・陽性判断の知識として提案可能である。

LmTK6 は、5-aza-dC による DNA 脱メチル化作用を高感度に検出することができた。また、DMSO 処理によって TK 復帰頻度が有意に減少したことから、DMSO は DNA メチル化亢進作用をも有すると考えられる。ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤の曝露による TK 復帰頻度の変化は観察されなかったため、LmTK6 に加えてクロマチン変化を柔軟に検出可能な細胞株の開発を検討する。

4-メチル-2-ペンテナールは、Ames 試験で強い陽性 (1340 revertants/mg) を示し、QSAR 予測でも陽性と判定されている (Honma et al., *Genes and Environ.* 42:32 (2020))。TK6 試験では、陰性であったことから、哺乳類細胞では起こらないバクテリア特異的な代謝反応等によって Ames 試験陽性になることが予想されるが、その作用機序については今後検討すべき課題と考えられる。

骨髄小核試験では、曝露量と *in vitro* 試験陽性の用量との間に明らかな相関性はないことが示唆された。肝臓小核試験では、週齢の影響および用量設定根拠となる細胞毒性指標の検討が課題

である。コメット試験では、適切な毒性指標や試験結果の解釈手法の改善が課題である。*Pig-a* 試験と TGR 試験は OECD テストガイドラインが作成・改訂中である。BMD 法による定量解析では、適切な CES の設定が必要である。ゲノム解析を用いた突然変異検出技術である ECS 法は新規の変異原性試験として有望であり、変異検出時のエラー率のさらなる低減が課題である。

用量設定試験野結果、本試験における高用量は 500 mg/kg 体重/日と設定した。一方、肝細胞の空胞変性は 20 mg/kg 群でも認められたことから、中間用量及び低用量は、公比 10 で除した 50 及び 5 mg/kg 体重/日に設定した。本試験では、50 mg/kg 以上の群において初回投与後に神経症状がみられたものの、用量設定試験と同様に、2 日目以降は軽減又は消失した。肝重量の増加及び ALT の有意な上昇は 50 mg/kg 群から認められ、これらは予備試験でも認められた肝毒性に伴う変化と考えられた。また、同群ではその他の臓器重量、血清生化学ならびに血液学的パラメーターの変化も認められており、これらの毒性学的意義については令和 4 年度に実施する病理組織学的解析の結果とともに考察する。

6-MQ の 28 日間経口投与試験の結果、1000 mg/kg 投与群では全例が死亡した。500 mg/kg 投与群では肝重量の増加と肝細胞肥大及び空胞変性が観察された。このことから、肝臓は 6-MQ の標的臓器であると考えられ、最大耐量は 500 mg/kg 体重/日と判断した。本試験は肝臓を標的とする肝遺伝毒性・発がん性中期包括試験 (GPG モデル) を実施することとし、投与用量は最大耐量の 500 mg/kg 体重/日に決定した。

## E. 結論

香料として代表的なフラン類に注目し、既存の結果整理と Ames 実試験を行った。Ames 実試験と QSAR 予測は必ずしも一致するとは限らないが、構造に注目した考察を行うことで、QSAR 予測精度の向上に資する知見が整理できた。令和 4 年度以降も Ames 実試験や情報の整理すすめ、香

料類の QSAR 予測改善に資する提案を行う。

樹立したエピ遺伝毒性試験株を用いて、内在性 TK 遺伝子をレポーターとして化学物質による DNA メチル化および DNA 脱メチル化作用を双方向に検出可能であることが示唆された。今後様々なヒストン修飾変化を柔軟に検出可能な改良株の開発を並行して進め、それらを併用して汎用性の高い試験法の確立を目指す。

TK6 試験によって、香料の 4 陽性物質のうち 1 物質が陰性であることが分かった。本研究期間では 4-メチル-2-ペンテナールの代謝活性化条件下は未実施であり、引き続き TK6 試験を実施し、そのフォローアップ試験としての有用性を検討する必要がある。得られたデータは、QSAR 予測性の向上、および専門家判断のための重要な遺伝毒性評価データとして資すると考えられる。

遺伝毒性試験法の専門家による国際会議に参加して情報収集を行い、*in vivo* フォローアップ試験の特徴と課題について検討した。取り上げられたトピックの多くは IWGT2022 で議論される予定である。遺伝毒性の定量的評価に関して、*in vivo* 遺伝毒性試験の用量反応データを用いた BMD 法による量的解析の検討を行い、国内ワークショップを実施した。ゲノム解析を用いた新規の突然変異検出法の技術的予備検討を行った。

一般毒性・遺伝毒性・発がん性包括試験の用量設定試験から ITB は神経毒性ならびに肝毒性を有することを確認した。また、ラットにおいて 13 週間反復投与が可能な最大量は 500 mg/kg 体重/日であることを明らかにした。それらの結果をもとに、本試験における投与量を 5、50 及び 500 mg/kg 体重/日に設定し、一般毒性・遺伝毒性・発がん性包括試験の動物実験を実施した。

6-MQ の 4 週間経口投与試験の結果、1000 mg/kg 体重/日投与群では全例が死亡した。500 mg/kg 体重/日投与群では肝重量の増加と肝細胞肥大および空胞変性が観察された。この結果より、本試験は肝臓を標的とした GPG モデルを実施することとし、投与用量は最大耐量の 500 mg/kg 体重/日に設定した。

## F. 健康危機情報

該当なし

## G. 研究発表

### G-1. 論文発表

1. 本間正充, 遺伝毒性, トキシコロジー (第3版), 朝倉書店, 128-141 (2017)
2. Petkov, PI, Schultz TW, Honma M, Kirilov K, Kotov S, Mekenyan OG, Predicting in vitro genotoxicity by mouse lymphoma L5178Y thymidine kinase mutation assay (MLA): Accounting for simulated metabolic activation of chemicals., Computational Toxicology, 4, 45-53 (2017)
3. Kasamatsu T, Kitazawa A, Tajima S, Kaneko M, Sugiyama KI, Yamada M, Yasui M, Masumura K, Horibata K, Honma M, Development of a new quantitative structure-activity relationship model for predicting Ames mutagenicity of food flavor chemicals using StarDrop™ auto-Modeller™., Genes and Environment, 43, 16 (2021)
4. Masumura K, Ando T, Ukai A, Fujiwara S, Yokose S, Xinyue Y, Suzuki T, Hayashi H, Nohmi T, Takagi H, Honma M., New homozygous gpt delta transgenic rat strain improves an efficiency of the in vivo mutagenicity assay., 43, 24 (2021)
5. Aoki Y, Ohno M, Matsumoto M, Matsumoto M, Masumura K, Nohmi T, Tsuzuki T., Characteristic mutations induced in the small intestine of Msh2-knockout gpt delta mice., 43, 27 (2021)
6. Honma M, Yamada M, Yasui M, Horibata K, Sugiyama KI, Masumura K., In vivo and in vitro mutagenicity of perillaldehyde and cinnamaldehyde., 43, 30 (2021)
7. Masumura K, Ando T. Toyoda-Hokaiwado N, Ukai A. Nohmi T, Honma M., Comparison of the frequencies of ENU-induced point mutations in male germ cells and inherited germline mutations in their offspring., 43, 43 (2021)
8. Sassa A, Fukuda T, Nakamura A, Sato R, Fujiwara S, Ukai A, Takeda S, Sugiyama KI, Honma M, Yasui M., Follow-up Genotoxicity assessment of Ames-positive/equivocal chemicals using the improved thymidine kinase gene mutation assay in DNA repair-deficient human TK6 cells., 36, 331-338 (2021).

### G-2. 学会発表

1. 食品用器具・容器包装のポジティブリスト制度における遺伝毒性評価の概要, 杉山圭一, 第19回食品安全フォーラム, 2021/12/10.
2. 遺伝毒性評価における in silico 解析について, 古濱彩子. 第19回食品安全フォーラム, 2021/12/10
3. MGMT 持続発現型 TK6 細胞を用いた遺伝毒性試験のための基礎的研究, 安井学, 佐々彰, 鶴飼明子, 足立淳, 鈴木孝昌, 本間正充, 杉山圭一, 日本環境変異原ゲノム学会第50回大会, 2021/11/2
4. DNA 修復異常がもたらす過剰な免疫応答の分子機構, 高藤 賢, 立川 明日香, 黛 結衣子, 中谷 一真, 菅澤 薫, 浦 聖恵, 佐々 彰, 日本環境変異原ゲノム学会第50回大会, 2021/11/2
5. ゲノム中のリボヌクレオチドに対する誤りがちな修復機構の解明, 黛 結衣子, 高藤 賢, 中谷 一真, 菅澤 薫, 浦 聖恵, 佐々 彰, 日本環境変異原ゲノム学会第50回大会, 2021/11/2
6. ヒトリンパ芽球細胞株 TK6 を用いたエビ遺伝毒性試験法の確立, 小田切 瑞基, 安井学, 本間 正充, 杉山 圭一, 浦 聖恵, 佐々



- 彰, 日本環境変異原ゲノム学会第 50 回大会, 2021/11/1
7. 安井学, 佐々彰, 鶴飼明子, 足立淳, 鈴木孝昌, 本間正充, 杉山圭一: MGMT 持続発現型 TK6 細胞を用いた遺伝毒性試験のための基礎的研究. 日本環境変異原学会第 50 回大会 (2021.11.2)
  8. 田中美咲, 竹入章, 松崎香織, 田中健司, 小川久美子, 安井学, 杉山圭一, 本間正充, 三島雅之: Ames 試験陽性フォローアップとしての TK6 細胞  $\gamma$  H2AX 評価系の有用性検討; 構造異性体および類縁体からの検証. 日本環境変異原学会第 50 回大会 (2021.11.2)
  9. 小田切瑞基, 安井学, 本間正充, 杉山圭一, 浦聖恵, 佐々彰: ヒトリンパ芽球細胞株 TK6 を用いたエピ遺伝毒性試験法の確立. 日本環境変異原学会第 50 回大会 (2021.11.1)
  10. 増村健一: HESI GTTC annual meeting 報告. 日本環境変異原ゲノム学会・MMS 研究会第 78 回定例会 (2021.06)
  11. 増村健一: 遺伝毒性試験研究における EC-NGS の可能性. 日本環境変異原ゲノム学会・MMS 研究会第 78 回定例会 (2021.06)
  12. 磯貴子, 村田康允, 重田善之, 広瀬望, 堀端克良, 増村健一, 杉山圭一, 松本真理子, 広瀬明彦: 食品用器具・容器包装のポジティブリスト収載物質「4,4'-オキシビス (ベンゼンスルホノヒドラジド)」の遺伝毒性評価. 第 48 回日本毒性学会学術年会(2021.07)
  13. 増村健一: レポーター遺伝子導入マウスと NGS を用いた生殖細胞突然変異の解析. 日本遺伝学会第 93 回大会(2021.09)
  14. Masumura K, Ando T, Ukai A, Fujiwara S, Yokose S, Takagi H, Nohmi T, Sugiyama K, Honma M.: Mutagenic response of newly developed gpt delta transgenic rat strain with homozygous transgene. 52nd annual meeting of Environmental Mutagenesis and Genomics Society (2021.09)
  15. 増村健一: 遺伝毒性における BMD 法の利用について. 日本環境変異原ゲノム学会・MMS 研究会第 79 回定例会(2021.10)
  16. 増村健一: 生殖細胞突然変異と次世代ゲノムへの影響. 日本環境変異原ゲノム学会第 50 回大会(2021.11)
  17. 青木康展, 大野みずき, 松本みちよ, 松本理, 増村健一, 能美健彦, 續輝久: ミスマッチ修復欠損条件下で gpt delta マウス小腸に誘発される特徴的突然変異. 日本環境変異原ゲノム学会第 50 回大会(2021.11)
- H. 知的財産権の出願・登録状況**  
該当なし