

# 環境変異原研究

Environmental  
Mutagen  
Research  
Communications

日本環境変異原学会  
**(EMS Japan)**  
第17回大会 抄録集

日本環境変異原学会

(EMS Japan)

第17回大会

1988・東京

日本環境変異原学会第17回大会組織委員会

〒104 東京都中央区築地 5-1-1  
国立がんセンター研究所 発がん研究部内  
TEL.(03)542-2511(内線4523)

\*\*\*\*\* ご案内 \*\*\*\*\*

会学系異変計画本日

(neqls 2M3)

会大回り案

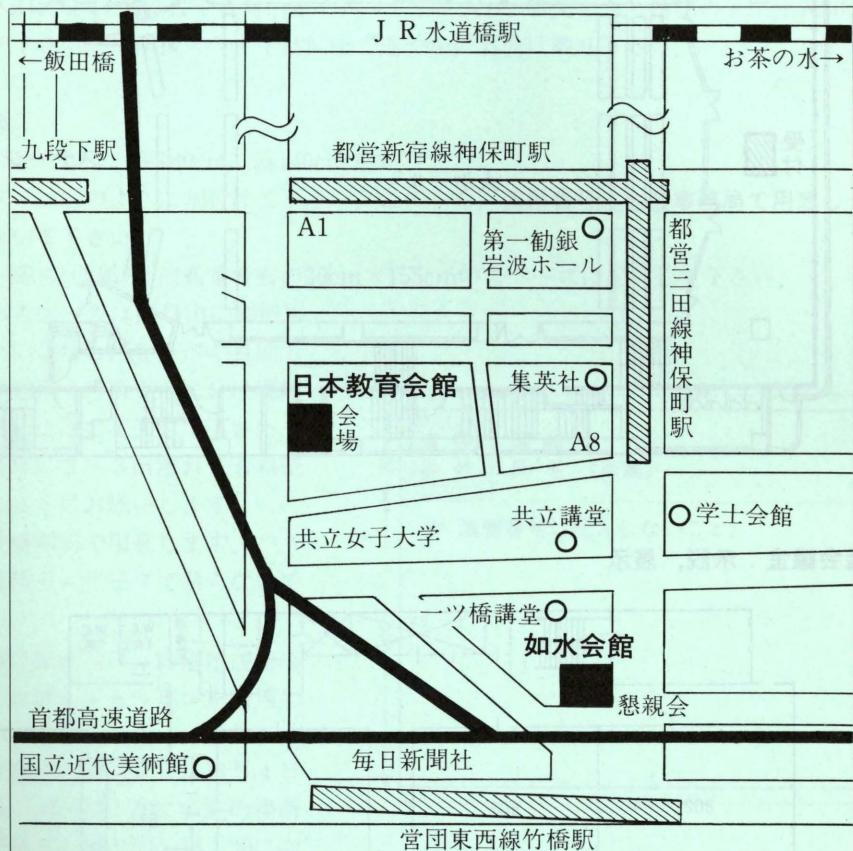
京東・8801

会員委員会大回り案会学系異変計画本日

（一）会場案内  
東京中央駅前  
内閣官邸  
TEL (03) 343-5211 (内) 4233

1. 会期 1988年11月4日(金), 5日(土)  
2. 会場 日本教育会館 3階ホール(口演), 8階会議室(示説)  
〒101 東京都千代田区一ツ橋2-6-2 TEL (03)230-2831

【会場周辺図】



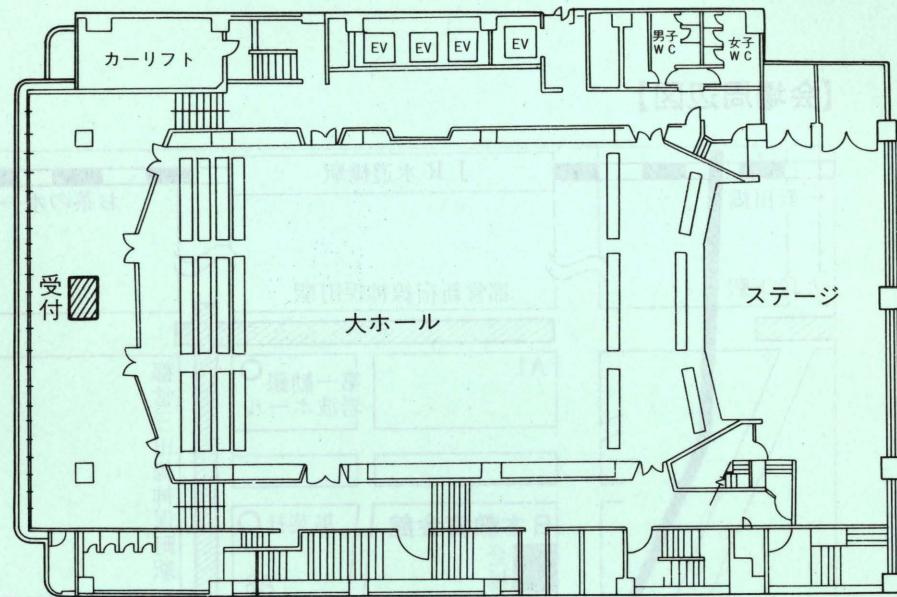
【利用交通機関】

- 地下鉄 都営新宿線神保町駅(A1出口) 下車徒歩2分  
都営三田線神保町駅(A8出口) 下車徒歩5分  
都営地下鉄東西線竹橋駅(竹橋方面) 下車徒歩5分
- J R 水道橋駅下車徒歩10分
- バス 都バス(茶-81)専修大前下車 下車徒歩3分

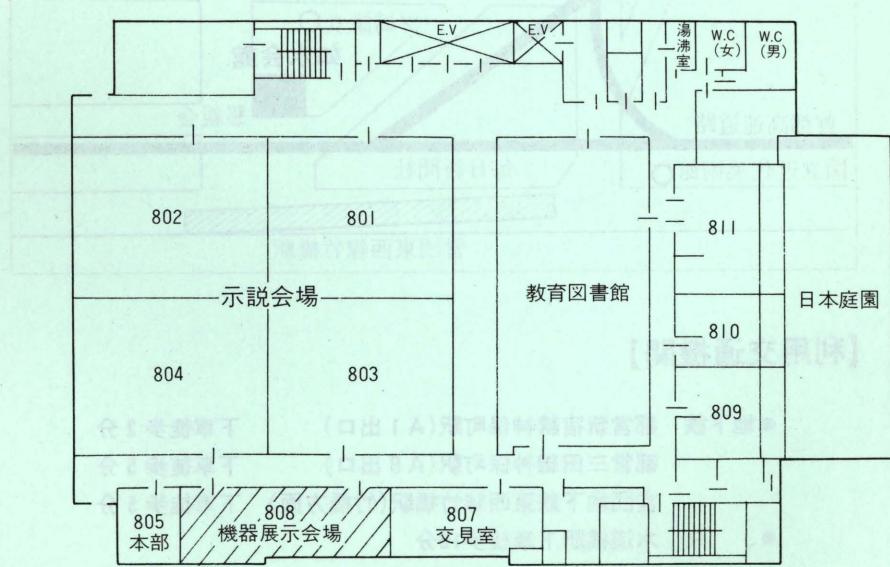
**【昼 食】** 日本教育会館内の飲食店(2階, 1階及び地下1階)又は、会場周辺のレストラン、食堂をご利用下さい。

**【会場案内】**

3階ホール：口演、総会、受賞講演、シンポジウム、Current Review



8階会議室：示説、展示



**3. 参加登録**

受付は11月4日(金)午前9時より3階ホールロビーにて行います。

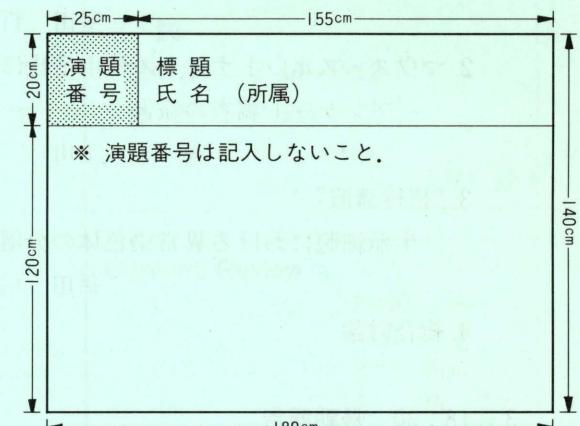
参加費は6,000円、懇親会費は4,000円です。会場では必ずネームプレートを着用して下さい。

**4. 一般口演**

- (1) 口演は発表9分、討論2分です。発表時間は厳守願います。
- (2) スライドは35mm判10枚以内にお願いいたします。原則としてパナコピーは御遠慮下さい。遠くからも良く見えるスライドを御準備下さい。
- (3) プロジェクターは1台です。同一スライドを再度使用される時は2枚御用意下さい。
- (4) スライドはスライド受付で各自所定のホルダーに入れ、試写により確認の上、発表30分前までに御提出下さい。口演後スライドは同所で速やかにお受け取り下さい。

**5. 示説発表**

- (1) 示説用パネルは、横180cm、縦140cmです。
- (2) ポスターは図のように割付けて下さい。このうち、演題番号は大会事務局で用意しますので記入しないで下さい。  
標題、氏名(所属)は演題番号右の20cm×155cmのスペースに記入して下さい。  
残りのスペースは御自由に御使用下さい。ただし、なるべく目的・方法・結果・考察などに分け理解しやすいように工夫して下さい。  
また文字は2~3m離れても判読可能なようにお願いします。
- (3) 画鋲は事務局で用意します。パネルに直接セロテープで貼らないで下さい。
- (4) 発表者は発表当日、8階示説会場受付でお渡しするリボンを着用して下さい。
- (5) 第1日発表のポスターは11月4日(金)10:30~11:30に所定の場所に各自貼り、16:20~18:30に撤去して下さい。
- (6) 第2日発表のポスターは、11月5日(土)10:30~11:30に所定の場所に各自貼り、15:20~17:30に撤去して下さい。



※ 演題番号は記入しないこと。

**6. 懇親会**

11月4日(金)(1日目)午後6時30分より如水会館で行います。日本教育会館から如水会館までは徒歩約8分です。(会場周辺図参照)

如水会館：〒101 東京都千代田区一ツ橋2-1-1 TEL (03) 261-1101

## 日 程 表

11月4日(金)		11月5日(土)	
9:00	受付	9:00	口演
9:25	開会挨拶 長尾美奈子		修飾
9:30			O-17~O-20 座長 菊川 清見
	口演		代謝
	検出		O-21~O-23 座長 大西 克成
	O-1~O-4 座長 松下 秀鶴		O-24~O-25 座長 山添 康
	O-5~O-8 座長 早津 彦哉		機構
			O-26~O-29 座長 祖父尼俊雄
	試験法		O-30~O-33 座長 藤川 和男
	O-9~O-12 座長 田ノ岡 宏		プロモーター
	O-13~O-16 座長 黒木登志夫		O-34~O-35 座長 加藤 隆一
12:26	昼食	12:29	昼食
13:15	総会	13:30	示説
	受賞講演 司会 松島泰次郎		試験法 P-40~P-52
14:30			修飾 P-53~P-64
	示説		機構 P-65~P-76
	検出 P-1~P-33	15:20	
	代謝 P-34	15:30	Current Review
	機構 P-35~P-39		C-1 杉村 隆
16:20			C-2 山添 康
16:30	シンポジウム 発がんに伴うDNA変化: 染色体異常およびがん遺伝子 S-1~S-4 司会 西村 邇 押村 光男		C-3 林 裕造
			司会 江角 浩安
18:05		17:00	
18:30	懇親会 (如水会館)		
20:30			

## お知らせ

### JEMS・MMS分科会 第14回定例会

日 時：11月3日(木) 午後3時30分～7時

場 所：日本教育会館

参加費：無料（どなたでも自由に参加できます）

#### — プ ロ グ ラ ム —

1. 15:30

事務連絡

スポットテスト共同研究について

小核共同研究について

MMS分科会事務局

スポットテスト共同研究世話人

小核共同研究世話人

2. 16:30 研究発表——哺乳動物生殖細胞での突然変異について考える——

1. アルキルニトロソウレアによるマウス生殖細胞の遺伝子突然変異誘発

渋谷 徹 (食薬センター・秦野研)

室田 哲郎 (三菱化成総合研究所)

2. マウス・スポットテストの使用系統における生殖細胞の自然突然変異

—アンケート調査の報告—

土川 清 (国立遺伝研)

3. “招待講演”

生殖細胞における異常染色体の分離と淘汰について

孫田 信一 (愛知コロニー・発達障害研)

4. 総合討論

3. 18:30 帰朝報告

神経芽細胞腫におけるN-myc遺伝子の增幅単位の分離と解析

西 義介 (日本たばこ・生命科学研)

問い合わせ先：JEMS・MMS分科会事務局

〒158 東京都世田谷区上用賀1-18-1

国立衛生試験所・変異原性部内

TEL: 03-700-1141(内線435)

11月4日(金)

## 口演

(3階ホール)

9 : 30 ~ 12 : 26

## 検出

座長 松下 秀鶴

- 9:30 O-1 コーヒー煎り豆におけるMeIQの生成とその含量：  
○高橋 伸也, 加藤 哲太, 菊川 清見 (東京薬大)

9:41 O-2 過酸化水素共存下における $\alpha$ -ジカルボニル化合物の反応性と変異原性について：  
○糠谷 東雄<sup>1</sup>, 岩見 穎彦<sup>1</sup>, 辻 邦郎<sup>1</sup>, 小菅 卓夫<sup>1</sup>, 諏訪 芳秀<sup>2</sup>  
若林敬二<sup>3</sup>, 長尾美奈子<sup>3</sup>, 杉村 隆<sup>3</sup> (<sup>1</sup>静岡薬大, <sup>2</sup>サントリー・研, <sup>3</sup>国立がんセンター研)

9:52 O-3 ごみ焼却炉よりのジニトピレンの排出：  
○神谷 明男, 小瀬 洋喜, 佐藤 孝彦 (岐阜薬大・公衛)

10:03 O-4 大気中浮遊粉塵の変異原性と変異原抑制性：  
○岩藤 弘子<sup>1</sup>, 内藤 允子<sup>1</sup>, 早津 彦哉<sup>2</sup> (<sup>1</sup>岡山県環境保健センター, <sup>2</sup>岡山大・薬)

座長 早津 彦哉

10:14 O-5 土壤の変異原性について：  
○大山 謙一, 遠藤 立一, 川原 浩 (東京都環境科学研・保健部)

10:25 O-6 BHA及びその代謝物のin vitro染色体異常誘発性について：  
○松岡 厚子<sup>1</sup>, 宮田 直樹<sup>2</sup>, 祖父尼俊雄<sup>1</sup>, 石館 基<sup>1</sup> (<sup>1</sup>国立衛試・変異原性, <sup>2</sup>合成化学)

10:36 O-7 Drosophila melanogasterによるcycasin, degraded carrageenanの変異原性：  
古川 秀之<sup>1</sup>, ○河井 一明<sup>1</sup>, 広野 巍<sup>2</sup> (<sup>1</sup>名城大・薬, <sup>2</sup>藤田学園保健衛生大・医)

座長 早津 彦哉

- 10:47 O-8 ペルオキシゾーム増殖剤経口投与によるラット肝の8-ヒドロキシデオキシグアノシン (8-OHdG) の生成：  
○高木 篤也<sup>1</sup>, 佐井 君江<sup>1</sup>, 梅村 隆志<sup>1</sup>, 黒川 雄二<sup>1</sup>, 葛西 宏<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>国立衛試・毒性, <sup>2</sup>国立がんセンター研・生物)

## 試験法

### 座長 田ノ岡 宏

- 10:58 O-9 変異原物質の極微弱発光の性質と発光機作について：  
○長田 和実<sup>1</sup>, 木村 修一<sup>1</sup>, 菱沼 宏哉<sup>2</sup>, 稲場 文男<sup>2,3</sup> (<sup>1</sup>東北大農・栄化,  
<sup>2</sup>新技術開発事業団, <sup>3</sup>東北大・電通研)

- 11:09 O-10 ニトロアレン, 芳香族アミンに高感受性を示す *S. typhimurium* TA98, TA100の新しい誘導株の樹立：  
○渡辺 雅彦, 能美 健彦, 石館 基 (国立衛試・変異原性)

- 11:20 O-11 線虫 *C. elegans* 変異株の発生阻害を指標にした癌原物質検出系：  
○宗像 信生 (国立がんセンター研・放射線)

- 11:31 O-12 2, 8ジハイドロキシアデニン結石症保因者由来リンパ芽球様細胞を用いたAPRT座位突然変異試験：  
○巽 紘一<sup>1</sup>, 豊田万里子<sup>1</sup>, 藤森 亮<sup>1</sup>, 立花 章<sup>1</sup>, 有田 泉<sup>1</sup>  
鎌谷 直之<sup>2</sup>, 武部 啓<sup>1</sup> (<sup>1</sup>京大医, <sup>2</sup>東女医大)

### 座長 黒木登志夫

- 11:42 O-13 癌遺伝子v-Ha-rasを導入したBALB3T3細胞株(Bhas42)を用いる発癌プロモーター検索系の開発：  
○佐々木澄志<sup>1</sup>, 水沢 博<sup>2</sup>, 石館 基<sup>2</sup>, 田中 憲穂<sup>1</sup> (<sup>1</sup>食薬安全セ・細胞生物部, <sup>2</sup>国立衛試・変異原性部)

- 11:53 O-14 無アルブミン血症ラットにおけるアルブミン産生肝細胞の出現を指標とした体細胞突然変異検出系：  
○落合 雅子<sup>1</sup>, 新田 紀子<sup>1</sup>, 島 礼<sup>1</sup>, Peter J.Wirth<sup>1</sup>, 鈴木 美加<sup>1</sup>  
長瀬 すみ<sup>2</sup>, 杉村 隆<sup>1</sup>, 長尾美奈子<sup>1</sup> (<sup>1</sup>国立がんセンター研・発がん,  
<sup>2</sup>佐々木研)

- 12:04 O-15 マウス受精卵の発生におよぼす合成洗剤AS. LASの影響：  
○石井 裕<sup>1</sup>, 鮫島 義弘<sup>2</sup>, 佐治 文隆, 野村 大成<sup>1</sup> (<sup>1</sup>阪大医・放基, <sup>2</sup>阪大医・産婦科)

- 12:15 O-16 Protein analysis of hereditary hepatitis rats by 2D-PAGE electrophoresis:  
○Yoshinori Fujimoto<sup>1</sup>, Peter J. Wirth<sup>1</sup>, Kimimaro Dempo<sup>2</sup>,  
Michio Mori<sup>2</sup>, Minako Nagao<sup>1</sup>, and Takashi Sugimura<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Carcinogenesis Division, National Cancer Center Research Institute,  
<sup>2</sup>Sapporo Medical College)

## 総 会

### 受賞講演

(3階ホール)

13:15~14:30

日本環境変異原学会奨励賞受賞講演

司会 松島泰次郎

マウス・スポットテスト系の確立

土川 清 (国立遺伝学研)

環境変異原・癌原物質のin vivo短期評価法の開発と応用

降旗 千恵 (東大・医科研)

環境変異原の酵素的活性化機構の研究

山添 康 (慶應大医・薬理)

## 示 説

(8階会議室)

14:30~16:20

## 検 出

- P-1 鉄ニトリロ三酢酸(Fe<sup>3+</sup>-NTA)の非変異原性とプロモーター作用について：  
○中塚 繁治<sup>1</sup>, 有元佐賀恵<sup>2</sup>, 難破 正義<sup>1</sup> (1川崎医大・医, 2岡山大・薬)
- P-2 N-ニトロサミンのショウジョウバエに対する変異原性の検出と活性修飾因子の検索：  
○塩谷 晃子, 根岸 友恵, 早津 彦哉 (岡山大・薬)
- P-3 非変異原物質であるハルマン及びノルハルマンによるDNA修飾：  
○山下 克美<sup>1,2</sup>, 大垣比呂子<sup>1</sup>, 若林 敬二<sup>1</sup>, 長尾美奈子<sup>1</sup>, 杉村 隆<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>国立がんセンター研, <sup>2</sup>九大医系・院)
- P-4 F344ラットにおけるPhIPのDNA付加体の生成：  
○高山 京子, 山下 克美, 若林 敬二, 長尾美奈子, 杉村 隆  
(国立がんセンター研・発がん)
- P-5 Heterocyclic amines類に対する酵素誘導マウス肝細胞を用いたDNA修復能試験：  
○岩田 仁, 吉見 直己, 田中 卓二, 森 良雄, 森 秀樹  
(岐阜大医・第一病理)
- P-6 Benz(a)anthracene誘導体及びそのdiol体によって誘発される染色体異常：  
○伊藤 義明<sup>1</sup>, 前田 盛<sup>2</sup>, 杉山 武敏<sup>2</sup> (1神戸市・環保研, <sup>2</sup>神戸大医・第2病理)
- P-7 ラット骨髄細胞による塩素代替殺菌剤の変異原性：  
○藤江喜美子<sup>1</sup>, 青木 豊明<sup>2</sup> (1大阪女子大, <sup>2</sup>大阪府大・工)
- P-8 Polyploid誘発剤の小核試験：  
○大内田昭信, 古川 明美, 吉田 良一 (大鵬薬品・安全性研)
- P-9 Benzeneおよび代謝物の小核誘発に関する検討：  
○島田 弘康, 佐藤 利之, 服部 千春, 佐武左知子, 伊東 悟  
(第一製薬・中央研)
- P-10 妊娠期シガレット煙暴露によるマウス胎仔肝におけるSCE・小核誘発性：  
○軽部 敏昭<sup>1</sup>, 小田切陽一<sup>1</sup>, 渡辺 昌<sup>2</sup>, 竹本 和夫<sup>1</sup> (1埼玉医大, <sup>2</sup>国立がんセンター研)

- P-11 マイコプラズマ除染剤の細胞毒性等について：  
○田中 憲穂<sup>1</sup>, 仙波 まり<sup>1</sup>, 阿部 和浩<sup>3</sup>, 坂本 京子<sup>2</sup>, 高島 浩介<sup>2</sup>  
(食薬安全セ・<sup>1</sup>細胞生物部, <sup>2</sup>食品環境部, <sup>3</sup>三菱油化・ビー・シー・エル)
- P-12 調理食品の突然変異原性について [IX]焼肉の変異原性に及ぼす焼き油およびたれの影響：  
○久岡 祥子, 村岡 知子 (山陽学園短大・食物栄養)
- P-13  $\gamma$ 線照射グルコースの変異原性：  
○坂本 京子, 金指久美子, 岩原 繁雄 (食薬安全セ・秦野研)
- P-14 糖・たんぱく質縮合物の変異原性—グルコース・牛血清アルブミン縮合物について—：  
○木苗 直秀<sup>1</sup>, 山下みづ子<sup>1</sup>, 小沢 敬弘<sup>2</sup>, 又木 克昌<sup>2</sup>, 富田 勲<sup>2</sup>  
(静岡県立大・<sup>1</sup>食品栄養科, <sup>2</sup>薬)
- P-15 秋田及び福岡で生産された漬物中の変異原物質の同定：  
○竹中 重幸<sup>1</sup>, 世良 暢之<sup>1</sup>, 廣畠 一代<sup>2</sup>, 廣畠 富雄<sup>3</sup>, 常盤 寛<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>福岡衛公セ, <sup>2</sup>久留米信愛女短, <sup>3</sup>九大・医)
- P-16 Isoquinoline系alkaloidの変異原性について：  
○野坂 富雄<sup>1</sup>, 渡辺富士雄<sup>1</sup>, 石野 正蔵<sup>1</sup>, 森本 功<sup>1</sup>  
国友 順一<sup>2</sup>, 石井 永<sup>3</sup>, 名取 信策<sup>4</sup> (1埼玉衛研, <sup>2</sup>武庫川女子・薬, <sup>3</sup>千葉大・薬, <sup>4</sup>明治薬大)
- P-17 亜硝酸処理醤油中に生成している3-diazotyramineの変異原性を増強する醤油中の因子：  
○東元 懿<sup>1,2</sup>, 俣野 景典<sup>2</sup>, 大西 克成<sup>1</sup> (1徳島大・医, <sup>2</sup>徳島文理大・薬)
- P-18 亜硝酸処理による変異原性ジアゾ化合物の生成：  
○笹川 千晶, 児玉 由香, 松島泰次郎 (東大医科研・癌生物)
- P-19 燻製食品と亜硝酸の反応による直接型変異原の生成：  
○大島 寛史, M.Friesen, C.Malaveille, I.Brouet, A.Hautefeuille, H.Bartsch (国際癌研究機関)
- P-20 1-Nitrosoindole-3-acetonitrileによる胃のDNA修飾：  
○若林 敬二, 山下 克美, 北川 義徳, 鈴木 美加, 長尾美奈子  
杉村 隆 (国立がんセンター研)
- P-21 N-ニトロソピペリジンの近紫外光-リン酸-処理で生成する直接変異原について：  
○有元佐賀恵<sup>1</sup>, 島田 浩美<sup>1</sup>, 吉田 敦子<sup>2</sup>, 鵜川さと子<sup>2</sup>, 望月 正隆<sup>2</sup>  
早津 彦哉<sup>1</sup> (1岡山大・薬, <sup>2</sup>共立薬大)

P-22 アルキルヒドラジンのサルモネラ菌TA102における変異原性：

○松下 洋久<sup>1</sup>, 山本 雅子<sup>1</sup>, 望月 正隆<sup>1</sup>, 遠藤 治<sup>2</sup>  
松下 秀鶴<sup>2</sup> (<sup>1</sup>共立薬大, <sup>2</sup>国立公衆衛生院)

P-23 アルデヒド類, ジケトン類の変異原性：

○加藤 典代<sup>1</sup>, 荒木 明宏<sup>1</sup>, 野崎 亘右<sup>1</sup>, 松島泰次郎<sup>2</sup> (<sup>1</sup>日本バイオアッセイ・微生物, <sup>2</sup>東大医研・癌生物)

P-24 磁場の変異原性に与える影響 (第2報)：

清水 英佑, ○龜山 雅子, 鈴木 勇司, 林 和夫 (慈恵医大・公衛)

P-25 悪性腫瘍患者の尿中変異原物質の検索：

○二宮ルリ子<sup>1</sup>, 橋本 英利<sup>2</sup>, 小泉 直子<sup>1</sup> (<sup>1</sup>兵庫医大・公衛, <sup>2</sup>神戸大・公衛)

P-26 ブルーコットンとブルーレーヨンに吸着する化合物の分類: ブルーレーヨンの応用：

○小原 淑子<sup>1</sup>, 有元佐賀恵<sup>1</sup>, 早津 聰子<sup>1</sup>, 斎藤 寛<sup>1</sup>, 村岡 知子<sup>2</sup>  
早津 彦哉<sup>1</sup> (<sup>1</sup>岡山大・薬, <sup>2</sup>山陽学園短大・食物栄養)

P-27 Blue rayon法による河川水の変異原性評価：

○阪本 博<sup>1</sup>, 早津 彦哉<sup>2</sup> (<sup>1</sup>岡山市水道局, <sup>2</sup>岡山大・薬)

P-28 有機ハロゲン化合物の変異原性：

中村 清一 (大阪府・公衛研)

P-29 高感度Amesテスト(microsuspension法)による室内空気汚染評価—実験室内エアコンのフィルターに付着した粉塵の変異原性：

○玉川 勝美<sup>1</sup>, 松本久美子<sup>1</sup>, 高橋 陽子<sup>1</sup>, 関 敏彦<sup>1</sup>, 角田 行<sup>1</sup>  
J.Lewtas<sup>2</sup> (<sup>1</sup>仙台市衛生試験所, <sup>2</sup>Health Effect Research Laboratory, U.S.EPA)

P-30 大気中粒子状物質の変異原性(第2報)：

○真鍋 芳樹, 朝倉 正登, 後藤 敦, 実成 文彦, 中島 泰知  
(香川医大・人間環境医学)

P-31 ピレンと二酸化窒素との光化学反応による2-ニトロピレンの生成について：

○久松 由東, 松下 秀鶴 (国立公衆衛生院)

P-32 ニトロアレーンの構造とその変異原性について: 2-および2,7-ニトロ置換フルオレン, フェナントレン, ピレン：

○平山 晃久, 渡辺 徹志, 下村 真司, 藤岡 靖弘, 小笠 茂  
福井 昭三 (京都薬大)

P-33 Nitro-, Aminophenazine誘導体の変異原性について：

○渡辺 徹志, 花崎有紀子, 平山 晃久, 福井 昭三 (京都薬大)

## 代 謝

P-34 1-ニトロピレンオキシドのグルタチオン抱合体の腸管内での代謝：

○西藤 佳子, 木内 武美, 大西 克成 (徳島大・医)

## 機 構

P-35 ペルオキシゾーム増殖剤Ciprofibrateの長期投与によるラット肝DNA中の8-ヒドロキシデオキシグアノシンの生成：

○葛西 宏<sup>1</sup>, 岡田有紀子<sup>1</sup>, 西村 邇<sup>1</sup>, M.S. Rao<sup>2</sup> J.K. Reddy<sup>2</sup> (<sup>1</sup>国立がんセンター研, <sup>2</sup>Northwestern Univ., USA)

P-36 腎発癌剤によるラット腎の8-hydroxydeoxyguanosine(8-OHdG)生成の検討：

○佐井 君江<sup>1</sup>, 高木 篤也<sup>1</sup>, 梅村 隆志<sup>1</sup>, 黒川 雄二<sup>1</sup>, 葛西 宏<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>国立衛試・毒性, <sup>2</sup>国立がんセンター研・生物)

P-37 コーヒーによるDNA中のヒドロキシグアニンの生成：

○塩谷 まみ, 若林 敬二, 杉村 隆, 長尾美奈子 (国立がんセンター研・発がん)

P-38 ジメチルアルシン酸投与ラットの肺におけるDNA鎖切断およびその誘発機構：

○山中 健三<sup>4</sup>, 箱守 健二<sup>1</sup>, 染矢 朗子, 長谷川 明, 澤村 良二<sup>1</sup>  
岡田 昌二<sup>2</sup> (<sup>1</sup>日大・薬, <sup>2</sup>静岡県大・薬)

P-39 活性酸素発生系における染色体異常誘発性VI. Menadione抵抗性細胞の分離とその利用：

○沢田 稔, 祖父尼俊雄, 石館 基 (国立衛試・変異原性)

## シンポジウム

(3階ホール)

16:30~18:05

発がんに伴うDNA変化: 染色体異常およびがん遺伝子

司会 西村 遼  
押村 光男

16:30 はじめに 西村 遼

16:35 S-1 実験動物がんのがん遺伝子

長尾美奈子 (国立がんセンター研・発がん)

16:55 S-2 細胞のがん化と染色体異常

鈴木文男 (金沢大・薬)

17:15 S-3 がん抑制遺伝子/染色体研究への細胞工学的アプローチ

○押村 光雄, 児井 稔 (神奈川がんセンター研・細胞遺伝)

17:35 S-4 ヒトがんにおける染色体欠失

横田 淳 (国立がんセンター研)

17:55 総合討論

(S-1~4: 発表 15分, 討論 5分)

## 懇親会

(如水会館)

18:30~20:30

11月5日(土)

## 口演

(3階ホール)

9:00~12:29

## 修飾

座長 菊川 清見

9:00 O-17 新しい変異原性物質吸着剤Green-Sepharoseの作成と吸着機構の解明:  
早津 彦哉, ○糸目 千穂, 有元佐賀恵 (岡山大・薬)

9:11 O-18 変異原のRice Fiberへの吸着:

○世良 暢之<sup>1</sup>, 森田 邦正<sup>1</sup>, 堀川 和美<sup>1</sup>, 常盤 寛<sup>1</sup>, 若林 敬二<sup>2</sup>  
大西 克成<sup>3</sup> (<sup>1</sup>福岡衛公センター, <sup>2</sup>国立がんセンター研, <sup>3</sup>徳島大医・細菌)

9:22 O-19 ダイエタリーファイバーの変異原吸着作用—in vitro/in vivoの比較—:

○蜂谷 紀之, 権太 浩, 滝澤 行雄 (秋田大医・公衛)

9:33 O-20 亜硝酸捕捉剤チオプロリン摂取によるヒト及びラット体内ニトロソ化反応の動態:

○津田 充宥, 加藤 珠実, 倉島由紀子, 杉村 隆 (国立がんセンター研・生化)

## 代謝

座長 大西 克成

9:44 O-21 キノリンの変異原性と解毒代謝とに及ぼす置換基の効果:  
○仙石 葉子, 神谷 昌嗣, 高橋 和彦, 幸田 光復, 川添 豊  
(名市大・薬)

9:55 O-22 9-Hydroxymethyl-10-methylanthraceneのsulfotransferaseによる代謝活性化:

○奥田 晴宏, 吉岡 新, 渡部 烈 (東京薬大・2衛生化)

10:06 O-23 Contribution of externally added hepatic cytosol on the Ames mutagenesis test:

○Abu-Zeid Medhat, Yamazoe Yasushi and Kato Ryuichi (Keio Univ., Sch. of Med., Dept. of Pharmacol.)

## 座長 山添 康

- 10:17 O-24 発癌性芳香族アミンの代謝活性化に関する研究—動物におけるN-ホルミル化：  
○辰巳 淳<sup>1</sup>, 北村 繁幸<sup>1</sup>, 天野 浩貴<sup>2</sup>, 上田 健治<sup>3</sup>, 奥村 文和<sup>1</sup>  
藤本 隆志<sup>1</sup> (<sup>1</sup>広島大医・薬, <sup>2</sup>現湧永製薬, <sup>3</sup>現参天製薬)

- 10:28 O-25 変異原物質の代謝的活性化に関与するラットのP-448-Hに対応するイヌ、サルおよびヒト肝ミクロソームのチクロームP-450分子種：  
○太田 和秀, 北田 光一, 大井 浩明, 小森 雅之, 鎌滝 哲也  
(北大・薬)

## 機 構

## 座長 祖父尼俊雄

- 10:39 O-26 活性酸素生成を伴うN-dimethylnitrosamineの変異原性発現機構：  
○古川 秀之, 河井 一明 (名城大・薬)
- 10:50 O-27 近紫外線(UVA)と化学物質による大腸菌umu遺伝子の誘発：  
○杉村佳洋子<sup>1</sup>, 岩本サカエ<sup>2</sup>, 橋本 昇次<sup>1</sup>, 大西 武雄<sup>1</sup> (<sup>1</sup>奈良医大, <sup>2</sup>奈良衛研)

- 11:01 O-28 G<sub>0</sub>期ヒト末梢リンパ球liquid-holdingに於ける温度効果の検討：姉妹染色分体交換頻度を指標として  
○三浦 邦彦, 森本 兼義 (阪大医・環境)

- 11:12 O-29 化学物質誘導染色体異常における核酸素の役割(1)Topoisomerase II：  
○笠原 義典, 四宮 順子, 中井 康晴, 八木 君枝, 蒔田徳太郎  
(帝人・生物医学研)

## 座長 藤川 和男

- 11:23 O-30 ショウジョウバエの体細胞突然変異検出系を用いたウレタンの変異生成機構：  
○梁 治子, 野村 大成 (阪大・医)
- 11:34 O-31 5-Fluorouracilのin vivo変異原性の発現に対するthymidine monophosphateの抑制効果：  
○中村 稔, 藤川 和男, 鮫島 順二, 中島 由弥, 一ツ町晋也  
(武田薬品・中央研)

- 11:45 O-32 ms遺伝子の母性遺伝の可能性  
○須藤 鎮世, 佐藤 静治 (伊藤ハム・中研)

- 11:56 O-33 N-エチル-N-ニトロソ尿素はマウス始原生殖細胞にも劣性突然変異を誘発する：  
○澁谷 徹<sup>1</sup>, 室田 哲郎<sup>2</sup>, 堀谷 尚古<sup>1</sup>, 原 巧<sup>1</sup> (<sup>1</sup>食薬安全セ・秦野研, <sup>2</sup>三菱化成総合研・安全性研)

## プロモーター

## 座長 加藤 隆一

- 12:07 O-34 テレオシジンとフォルボールエステルとの構造相関  
○首藤 紘一, 遠藤 泰之<sup>1</sup>, 板井 昭子<sup>1</sup>, 藤木 博太<sup>2</sup> (<sup>1</sup>東大・薬, <sup>2</sup>国立がんセンター研)

- 12:18 O-35 下痢性貝中毒関連物質の発癌プロモーション作用  
○藤木 博太<sup>1</sup>, 菅沼 雅美<sup>1</sup>, 村主 浩子<sup>1</sup>, 吉澤 滋<sup>1</sup>, 高木 寛治<sup>1</sup>  
宇田 直人<sup>1</sup>, 佐々 壽浩<sup>1</sup>, 山田 静之<sup>2</sup>, 安元 健<sup>3</sup>, 杉村 隆<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>国立がんセンター研, <sup>2</sup>名大・理, <sup>3</sup>東北大・農)

## 示 説

(8階会議室)

13:30~15:20

## 試験法

- P-40 変異原性試験用菌濃度調節装置の試作：  
○後藤 純雄<sup>1</sup>, 武田 知明<sup>2</sup>, ○遠藤 治<sup>1</sup>, 高木 敬彦<sup>2</sup>, 村田 元秀<sup>2</sup>  
松下 秀鶴<sup>1</sup> (<sup>1</sup>国立公衆衛生院, <sup>2</sup>麻布大)
- P-41 umuテストによる各種殺菌消毒剤及び代謝産物の遺伝毒性評価：  
○坂上 吉一<sup>1</sup>, 山崎 浩志<sup>1</sup>, 横山 浩<sup>1</sup>, 小瀬 洋喜<sup>2</sup>, 佐藤 孝彦<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>大阪府立公衛研, <sup>2</sup>岐阜薬大)
- P-42 umu試験の高感度・簡易化に関する研究—フローインジェクション方式の利用—：  
○後藤 純雄<sup>1</sup>, 村上貴美恵<sup>2</sup>, 遠藤 治<sup>1</sup>, 福岡 正芳<sup>3</sup>, 片山 敬<sup>2</sup>  
松下 秀鶴<sup>1</sup> (<sup>1</sup>国立公衆衛生院, <sup>2</sup>東理大・薬, <sup>3</sup>明電舎開発)
- P-43 Micro-forward mutation法の改良法を用いた微量室内浮遊粒子の変異原性：  
○高木 敬彦<sup>1</sup>, 後藤 純雄<sup>2</sup>, 杉田佐和子<sup>1</sup>, 村田 元秀<sup>1</sup>, 松下 秀鶴<sup>2</sup>  
Joellen Lewtas<sup>3</sup> (<sup>1</sup>麻布大, <sup>2</sup>国立公衆衛生院, <sup>3</sup>U.S.EPA)

P-44 Aneuploidgen検出系の開発 I. ヒト×マウス雑種細胞による検出系：  
○山影 康次<sup>1</sup>, 岩田 好史<sup>1</sup>, 押村 光雄<sup>2</sup>, 田中 憲穂<sup>1</sup> (<sup>1</sup>食薬安全セ・秦野研・細胞生物, <sup>2</sup>神奈川がんセンター研・細胞遺伝)

P-45 Aneuploidgen検出系の開発 II. Aneuploid誘発の指標について：  
山影 康次<sup>1</sup>, ○岩田 好史<sup>1</sup>, 押村 光雄<sup>2</sup>, 田中 憲穂<sup>1</sup> (<sup>1</sup>食薬安全セ・秦野研・細胞生物, <sup>2</sup>神奈川がんセンター研・細胞遺伝)

P-46 蟻酸, 酢酸, 乳酸による染色体異常誘発とpHとの関連性について：  
○渡辺 芳江, 森田 健, 武田 憲三, 奥村 和夫 (日本グラクソ・東京研)

P-47 陽性対照物質の染色体異常誘発率に及ぼす培養液pHの影響：  
○森田 健, 渡辺 芳江, 武田 憲三, 奥村 和夫 (日本グラクソ・東京研)

P-48 CHLおよびCHO細胞を用いるin vitro染色体異常試験の比較：米国NTP計画との協力研究：  
○祖父尼俊雄<sup>1</sup>, 松岡 厚子<sup>1</sup>, 沢田 稔<sup>1</sup>, 石館 基<sup>1</sup>, Michael D.Shelby<sup>2</sup> (<sup>1</sup>国立衛試・変異原性, <sup>2</sup>NIEHS, USA)

P-49 小核試験における投与経路の差：  
小核試験共同研究グループ (JEMS・MMS分科会)  
世話人代表 林 真 (国立衛試・変異原性)

P-50 ラットの肝臓における不定期DNA合成 (UDS) の迅速な検索法：  
○澤田 繁樹<sup>1,2</sup>, 降旗 千恵<sup>1</sup>, 松島泰次郎<sup>1</sup> (<sup>1</sup>東大・医科研, <sup>2</sup>エーザイ・安全研)

P-51 in vivo DNA修復試験によるAflatoxin類の構造とハエでの活性力の強さの関係：  
○柴原 俊一<sup>1</sup>, 梁 治子<sup>2</sup>, 津志本 元<sup>1</sup>, 野村 大成<sup>2</sup> (<sup>1</sup>大塚製薬・徳島研, <sup>2</sup>阪大・医)

P-52 ショウジョウバエ翅毛スポットテストにおける組換えスポットの割合：  
○原 巧<sup>1</sup>, 石原 幸治<sup>2</sup>, 堀谷 尚吉<sup>1</sup>, 濱谷 徹<sup>1</sup> (<sup>1</sup>食薬安全セ・秦野研, <sup>2</sup>日産化学)

## 修 饰

P-53 多芯型複合纖維によるたばこ主流煙中の変異原・がん原物質の吸着除去：  
○植田 吉純, 若林 敬二, 杉村 隆, 長尾美奈子 (国立がんセンター研・発がん)

P-54 ペルオキシダーゼによるヘアダイp-phenylene diamineの変異原性の不活化：  
○布柴 達男, 西岡 一 (同志社大・生化研)

P-55 生体内薬物代謝系物質による変異原不活化：  
○高萩 真彦, 布柴 達男, 西岡 一 (同志社大・生化研)

P-56 Antimutative Effects of the Crude Seed Extract of Euphoria Longana against B(a)P and DEN in *S.typhimurium* TA98 and TA100：  
○洪 清霖<sup>1</sup>, 陳 球芳<sup>2</sup>, 蘇 哲民<sup>2</sup>, 董 一致<sup>2</sup>, 清水 英佑<sup>3</sup>  
(台北医学院・<sup>1</sup>公衛1, <sup>2</sup>生化2, <sup>3</sup>慈惠医大・公衛)

P-57 香辛料の変異原性修飾効果：  
○平山 晃久, ○小川俊次郎, 雲 聰, 山田 高司, 渡辺 徹志  
福井 昭三 (京都薬大)

P-58 野菜の栽培条件と抗変異原性：  
○江幡 淳子, 井上 明子 (阪市大・生活科学)

P-59 ヘテロサイクリックアミンのDNA傷害作用に対するクロロフィリンの効果—ショウジョウバエ修復能欠損株を用いて—：  
○根岸 友恵, 早津 彦哉 (岡山大・薬)

P-60 Cisplatinがヒト末梢リンパ球に誘発するSCEと染色体異常およびsodium thiosulfateの影響：  
○大江 武<sup>1</sup>, 津田昌一郎<sup>2</sup>, 稲沢 譲治<sup>1</sup>, 谷脇 雅史<sup>2</sup>, 薗田 精昭<sup>1</sup>  
三沢 信一<sup>2</sup>, 阿部 達生<sup>1</sup> (京都府立医大・<sup>1</sup>衛生, <sup>2</sup>三内)

P-61 マイトマイシンC誘発姉妹染色分体交換の免疫賦活多糖類クレスチン, レンチナンによる抑制：  
○長谷川潤二<sup>1,2</sup>, 細川真澄男<sup>1</sup>, 岡田 太<sup>1</sup>, 小林 博<sup>1</sup> (<sup>1</sup>北大癌研・病理, <sup>2</sup>北大環科研・環境医)

P-62 マウス骨髄染色体異常誘発に対するタンニン酸の抑制作用：  
○松元 郷六, 佐々木 有, 太田 敏博, 白須 泰彦 (残留農薬研)

P-63 発ガンプロモーターにより誘導されるマクロファージNBT還元能に対するメラノイジンの抑制効果：  
○龜 瑞林<sup>1</sup>, 篠原 和毅<sup>2</sup>, 野中美智子<sup>1</sup>, 村上 浩紀<sup>1</sup>, 大村 浩久<sup>1</sup>  
(九大・食糧化学, <sup>2</sup>農水省・食総研)

P-64 抗腺胃発癌プロモーターの検索：  
○降旗 千恵, 松島泰次郎 (東大医科研・癌生物)

## 機 構

P-65 カドミウムによる適応応答誘導の特異的阻害：  
○今枝 孝夫, 高橋 和彦, 川添 豊 (名市大・薬)

P-66 大腸菌におけるMNNG誘発突然変異に対するo-vanillinの増強効果：  
○渡辺佳津子, 太田 敏博, 加藤 朋子, 白須 泰彦 (残留農薬研)

P-67 アルキル化剤の突然変異誘発にはSOS反応も関わる：  
○寺西 利之, 布柴 達男, 西岡 一 (同志社大・生化研)

P-68 *Salmonella typhimurium* G46株におけるmitomycin Cのumu遺伝子の誘発増加：  
○安永 勝昭, 浅井 紀子, 吉川 邦衛 (三菱化成総合研・安全性研)

P-69 mucAB遺伝子の発現と突然変異誘発の増強 (続報)：  
○田ノ岡 宏, 田中 和彦 (国立がんセンター研, 放射線)

P-70 ステビオールにより誘導されたサルモネラ突然変異のプラスミッドDNAを用いる解析：  
○松井 道子, 松井 恵子, 能美 健彦, 水沢 博, 石館 基  
(国立衛試・変異原性)

P-71 シノキサートおよびメチルシナペートのSCE, 染色体異常誘発増強作用 (第2報)：  
○下位香代子<sup>1</sup>, 中村 好志<sup>1</sup>, 野呂 忠敬<sup>1</sup>, 富田 勲<sup>1</sup>, 佐々木 有<sup>2</sup>  
今西 久子<sup>2</sup>, 白須 泰彦<sup>2</sup> (<sup>1</sup>静岡県立大・薬, <sup>2</sup>残留農薬研)

P-72 多剤耐性細胞の分離と変異原物質に対する感受性について：  
○仁藤 新治, 近藤 靖, 有行 史男, 岡庭 梓 (田辺製薬・安全研)

P-73 バニリンのin vitroおよびin vivoにおける突然変異抑制作用：  
○今西 久子, 佐々木 有, 松元 郷六, 太田 敏博, 白須 泰彦  
(残留農薬研)

P-74 Erythropoiesisから見た小核試験(その4)Prostaglandin E<sub>2</sub>の小核誘発能に与える影響：  
○鈴木 勇司<sup>1</sup>, 戸田 昌平<sup>2</sup>, 清水 英佑<sup>1</sup> (<sup>1</sup>慈恵医大・公衛, <sup>2</sup>相互生物医学研)

P-75 Erythropoiesisから見た小核試験(その5)Caキレート剤の小核誘発能に与える影響：  
鈴木 勇司<sup>1</sup>, ○戸田 昌平<sup>2</sup>, 清水 英佑<sup>1</sup> (<sup>1</sup>慈恵医大・公衛, <sup>2</sup>相互生物医学研)

P-76 エチルニトロソウレアで誘発されたマウスヘモグロビン変異体の分析：  
○室田 哲郎, 井上 由起, 中村 ゆり, 杉本 次郎 (三菱化成総合研・安全性研)

## Current Review (3階ホール)

15:30~17:00

司会 江角 浩安

C-1 発がん物質および発がんをめぐる最近の諸問題

杉村 隆 (国立がんセンター)

C-2 生体内代謝反応とその内分泌ホルモンによる調節

山添 康 (慶應大医・薬理)

C-3 環境変異原発がん物質のリスク評価

林 裕造 (国立衛生試験所・病理)

# 受賞講演 シンポジウム Current Review

講演会題  
題名  
講演者  
会場  
開催日

Cultural Review

(3月木曜)

会員

題名  
講演者  
会場  
開催日

C-3. 論稿の木曜会員講演会  
内山洋次

上野講堂  
講演者  
内山洋次  
会場  
開催日

C-4. 論稿の木曜会員講演会  
内山洋次

上野講堂  
講演者  
内山洋次  
会場  
開催日

C-5. 論稿の木曜会員講演会  
内山洋次

上野講堂  
講演者  
内山洋次  
会場  
開催日

C-6. 論稿の木曜会員講演会  
内山洋次

上野講堂  
講演者  
内山洋次  
会場  
開催日

C-7. 論稿の木曜会員講演会  
内山洋次

上野講堂  
講演者  
内山洋次  
会場  
開催日

C-8. 論稿の木曜会員講演会  
内山洋次

上野講堂  
講演者  
内山洋次  
会場  
開催日

C-9. 論稿の木曜会員講演会  
内山洋次

上野講堂  
講演者  
内山洋次  
会場  
開催日

C-10. 論稿の木曜会員講演会  
内山洋次

上野講堂  
講演者  
内山洋次  
会場  
開催日

## 受賞講演

### マウス・スポットテスト系の確立

土川 清(遺伝研)

マウススポットテストはL. B. RussellとM. H. Major(1957)が、X線による体細胞の誘発突然変異を検出するために考案した方法である。毛色に関する遺伝子が固定されたテスターと、野性型のマウスとの交配による胎仔に変異原を暴露し、その色素細胞に誘起された突然変異を、生まれた仔の被毛に現われる特異なスポットを指標にして判別する。この方法はその後およそ20年間全く顧みられなかつたが、近年in vivo試験法としてあらためて注目されるようになった。

さて当初わが国においてこのテストを試みようとしても、まず一般には適当なテスターの入手が困難であった。そこで演者が育成したPW(a/a b/b c<sup>ch</sup>p/c<sup>ch</sup>p d/d)のI亜系を、日本SLC(株)の協力によってSPF化し、誰でも容易に入手できるようにするとともに、1984年から本学会の分科会であるMMS研究会において、スポットテストの共同研究を行い、その成果の一部は昨年の本学会の大会でも発表したように、PWを用いるスポットテスト系の確立は、この共同研究グループ全員による業績であると考えている。

最近PWと演者が育成した近交系C<sup>e</sup>(a/a B/B c<sup>e</sup>P/c<sup>e</sup>P D/D)との交配によるスポットテストで、変異原などの染色体組換え誘起性も検定できる系を考案した。しかし染色体組換えに由来する双子斑の判別が、毛色の識別に習熟していないとむずかしいので、さらに新たに育成したKP(a/a b/b Cp/Cp d/d)とC<sup>e</sup>系との交配による方法について検討している。この場合には従来の方法による標識遺伝子座の突然変異の検出とともに、双子斑も容易に識別できるはずである。

## 受賞講演

### 環境変異原・癌原物質のin vivo短期評価法の開発と応用

降旗 千恵(東大・医科研)

1) 不定期DNA合成誘発と2) DNA鎖切断誘発とを遺伝子毒性の指標として、それに加えて癌原物質ではさらに3) 複製DNA合成誘導と4) オルニチン脱炭酸酵素誘導とを発癌促進作用の指標として、in vivo短期評価法を開発した。方法は、ラットに化学物質を投与し、目的の臓器を取りだして器官培養または肝臓では細胞培養を行う。複製のDNA合成阻害剤ヒドロキシウレア存在下と非存在下とで同時に [<sup>3</sup>H] チミジンをDNAに取り込ませ、組織からDNAを抽出して、液体シンチレーションカウンターでDNA合成を定量する。その値から不定期DNA合成と複製DNA合成とを算出する。この方法を中心として、アルカリ溶出法によるDNA鎖切断と、オルニチン脱炭酸酵素活性とを補助指標として用いる。標的臓器として、腺胃、前胃、大腸、肝臓について方法を開発した。既知癌原物質、MNNG, ENNG, 4NQO, 2AAF, DMNなど13種類では、これらの指標の各臓器での誘導と発癌の臓器特異性とはよく一致した。

この方法を用いて環境変異原の中からラットの腺胃に作用する化学物質を検索した。加熱食品中に含まれるジカルボニル化合物、グリオキザール、メチルグリオキザール、シアセチル、野菜に含まれる植物ホルモンを亜硝酸処理して生成する1-ニトロソインドール-3-アセトニトリル、医薬品バメタンを亜硝酸処理して生成する3-ジアゾ-N-ニトロソバメタンがラット腺胃に対して、遺伝子毒性と細胞増殖作用とを持つことを明らかにした。このうちグリオキザールは後に二段階実験発癌で胃発癌プロモーターであることが確認された。他方医薬品シメチジンのニトロソ化物ニトロソシメチジンは最大耐性量でも腺胃には陰性であった。ヘテロサイクリックアミンIQも腺胃には陰性であった。この予測も後の長期発癌実験の結果と一致した。

1. Furihata, C. & Matsushima, T. (1982) Banbury Reports, 13, 123-135.
2. Furihata, C. et al. (1984) J. Natl. Cancer Inst., 72, 1327-1334.
3. Furihata, C. et al. (1984) Biochom. Biophys. Res. Commun., 121, 1027-1032.
4. Furihata, C. et al. (1985) Carcinogenesis, 6, 91-94.
5. Furihata, C. et al. (1985) Jpn. J. Cancer Res. (Gann), 76, 809-814.
6. Furihata, C. et al. (1987) Jpn. J. Cancer Res. (Gann), 78, 32-39.
7. Furihata, C. et al. (1987) Jpn. J. Cancer Res. (Gann), 78, 432-435.
8. Furihata, C. et al. (1987) Jpn. J. Cancer Res. (Gann), 78, 1363-1369.
9. Furihata, C. & Matsushima, T. (1987) CRC Critical Rev. Toxicol., 17, 245-277.
10. Furihata, C. et al. (1988) Mutagenesis, 3, 299-301.

## 受賞講演

### 環境変異原の酵素的活性化機構の研究

山添 康(慶應大医 薬理)

環境中に含まれる変異原物質の多くは、それ自身では不活性であり生体内で酵素的活性化を受けたのちその作用を示すことが知られている。例えばヘテロサイクリックアミンは主に肝チトクロームP-450によって、まずN-ヒドロキシ体に変換されさらに酵素的活性化を受けてDNAや他の生体高分子と反応する。N-ヒドロキシアリルアミンの酵素的活性化の機構は、環境中にニトロアレンやヘテロサイクリックアミンが数多く含まれるにも関わらず、物質が不安定なこともあってよくわからていなかった。そこでヘテロサイクリックアミンのN-ヒドロキシ体を活性化する酵素について、その性質および反応機構の研究をおこなった。その結果、N-ヒドロキシアリルアミンの活性化に少なくとも3種の異なる酵素(アセチルトランスフェラーゼ、スルホトランスフェラーゼおよびアミノアシル-tRNA合成酵素)が関与し、いずれもN-O-アシル化の反応によって活性化されることを明らかにした。またアリルアミンやN-ヒドロキシアリルアミンの活性化に関与するアセチルトランスフェラーゼの活性には著しい個体差があるが、我々はハムスター肝より2種の酵素、AT-IとAT-IIを精製しその差異がAT-II含量の違いに由来し、その発現は遺伝的支配を受けておりメンデルの法則に従うことを明らかにした。

## シンポジウム

### 発がんに伴うDNA変化：染色体異常およびがん遺伝子

司会 西村 邦  
押村 光男

#### S-1 実験動物がんのがん遺伝子

長尾美奈子(国立がんセンター研・発がん)

変異原・癌原物質が環境中に多数存在する。その多くのものが動物に肝がんを作る。当然肝がんにおけるがん遺伝子の活性化は、いろいろなDNAの変異を伴う。アフラトキシンで誘発されたラット肝がんでは、K-rasの突然変異を伴うことが明らかにされてきた。

我々の研究室では、IQにより誘発されたラット肝がんで $raf$ がん遺伝子の発現の増加があることを発見した。一方、ラット肝がんのDNAをNIH3T3細胞にトランسفクトし、得られたトランスポーマントでは、 $raf$ が活性化していることを見出した。この $raf$ 遺伝子の活性化は、5'側半分が他の遺伝子と組み換え再配列したことによる。 $raf$ 遺伝子の活性化に環境変異原による突然変異がどのように関与しているかは未だ解明されていない。

国内外の報告を整理し、考察する。また肝がん以外のがんにおけるがん遺伝子の変化についても言及する。

## シンポジウム

### S-2 細胞のがん化と染色体異常

鈴木 文男(金沢大・薬)

一般に腫瘍発生過程は極めて複雑で長期間要するものである。この点、個体レベルで細胞がん化機構を明らかにすることは不可能に近い。これまでに我々は、ハムスター細胞を用いて試験管内発がん系を確立し、細胞がん化形質発現に伴う染色体変化について解析してきた。ここでは、主としてチャイニーズハムスター細胞を用いて得られた研究結果を紹介する。

#### 〔材料と方法〕

細胞は13~14日齢の胎児より分離した。50cm<sup>2</sup>培養フラスコに10<sup>6</sup>個ずつ植え、3日毎に継代培養した。各継代期についてがん化形質発現の有無を調べると共に、ギムザ分染法による核型分析、既知遺伝子プローブを用いた遺伝子発現量の変化、およびNIH3T3細胞に対するtransformation能の測定を行った。

#### 〔結果と考察〕

培養した9例すべてが無限増殖系へ移行し、うち2例は継代に伴い軟寒天コロニー形成能やヌードマウスに対する造腫瘍性を示した。これらの形質転換細胞には高頻度に3番染色体長腕部の付加が見られたが、3番染色体の遺伝子発現には、何等変化が認められなかった。一方、各種悪性形質転換細胞のDNAをNIH3T3細胞に導入すると、高い頻度でフォーカス形成が認められた。transfectされた細胞は造腫瘍性を示し、その腫瘍形成細胞DNA中にはハムスター由来のDNAが存在していた。

以上の結果は、チャイニーズハムスターのがん化には特定染色体の変化に加えて、がん遺伝子の活性化が必要であることを示唆する。

## シンポジウム

### S-3 がん抑制遺伝子／染色体研究への細胞工学的アプローチ

○押村光雄、児井 稔(神奈川がんセ・研・細胞遺伝)

正常細胞ががん細胞となるまでの過程には多くの遺伝子と様々な機構が関与している。近年の発がん遺伝子の発見およびそれらを用いた多くの実験結果は、発がんの過程には、突然変異、染色体転座および遺伝子増幅などによる発がん遺伝子の活性化が重要な役割をもつことを示してきた。しかし、一方、正常細胞ががん細胞になるまでの過程には、上述のがん遺伝子の活性化に加え、がん抑制遺伝子と呼ばれる一群の遺伝子の消失が必要であることを示唆する多くの証拠が示されつつある。今回、ヒトおよび動物細胞における細胞遺伝学的および微小核融合による染色体導入を含む細胞工学的手法を用いた演者の実験結果を基に、発癌過程におけるがん抑制遺伝子／染色体の消失の重要性について論じたい。

## シンポジウム

### S-4 ヒトがんにおける染色体欠失

○横田 淳(国立がんセ研)

近年、ヒトがん細胞における染色体特定領域の欠失とがん化との関連が注目されている。遺伝性腫瘍など特定の腫瘍では以前から染色体の特定領域に欠失があることが指摘されており、欠失部位にあるがん抑制遺伝子(anti-oncogene)の不活化によるがん化機構が想定されていた。特に網膜芽細胞腫でその研究が進んでおり、ヒト第13染色体長腕から網膜芽細胞腫で欠失している遺伝子(RB遺伝子)が既に単離され、この遺伝子が網膜芽細胞腫で不活化していることを示唆するデータが蓄積されてきている。染色体欠失の研究が遺伝子レベルへと急速に展開し、その結果は染色体欠失ががん化を抑制している遺伝子を完全に不活化するための二段階目の変化であることを裏付けている。また、分子遺伝学的解析法の進歩により種々の固型がんの染色体異常が遺伝子レベルで分析されるようになり、遺伝性腫瘍だけでなく一般的な成人腫瘍にも同様の染色体欠失が高頻度に起こっていることがわかつってきた。そこで、現在では多くのがんの発症に染色体欠失が関与していると考えられるようになった。我々も分子遺伝学的な手法を用いて、種々のがんにおける染色体欠失について解析している。ここでは最も頻度の高い成人腫瘍のひとつである肺がんを例にあげ、我々の研究成果を中心に染色体欠失の研究について概説したい。特に、肺小細胞がんにおける第3、13、17染色体の欠失について述べ、さらに第13染色体にあるRB遺伝子が肺小細胞がんでも不活化していることを示唆するデータを紹介する。

### C-1 発がん物質および発がんをめぐる最近の諸問題

杉村 隆(国立がんセンター)

発がん物質には、発がん以外の薬理作用もある。

変異原物質・発がん物質であるメチル・アミノ・ $\alpha$ ・カルボリンを餌に混ぜてラットに経口投与すると、唾液腺と臍臓の萎縮を起こす。この物質は両組織の細胞のDNAに付加体を形成する。

ジメチルベンツアントラセンは筋肉内注射でニワトリの腹部大動脈に粥状硬化斑形成をうながす。

Trp-P-1はマウス体内で、脳のモノアミン酸化酵素を阻害する。成人病の成因と、発がん物質の関連を広く研究する要がある。

発がん因子には、一般的に組織傷害を起こし細胞の増殖を促す作用もある。P-450誘導や、免疫抑制等の個体全体に及ぶ作用もある。

発がん過程は、イニシエーション・プロモーション・プログレッションと複雑で、DNAに変化を与える物質と、細胞の増殖を起こす要因とは、同時的・異時的に相互作用する。

慢性炎症、治癒の遷延する組織障害は、がん発生の要因となる。局所的老化も関連する。これらの条件下に、がん遺伝子とがん抑制遺伝子の変異・再構成・増幅・欠損等の発生する機会が増加する。

長い発がんの経過の種々な段階にある細胞が混在している人間の前がん状態を考え、がん予防を論じる要がある。

### C-2 生体内代謝反応とその内分泌ホルモンによる調節

山添 康(慶應大医・薬理)

生体内に取り込まれた変異原を含む多くの物質は主に肝において酸化／還元あるいは抱合などの代謝を受けたのち体外へ排泄される。肝では多種の酵素(群)がこの代謝変換に関与しており、これら酵素(群)の活性は従来から薬物、癌原物質あるいは変異原物質の処置によって変動することが明かにされている。この機構は酵素誘導として知られているが、我々は最近これら薬物代謝酵素が外因性物質ではなく下垂体ホルモンによっても調節されていることを見い出した。このような調節はラット肝ではチトクロームP-450、ステロイド還元酵素、スルホトランスフェラーゼおよびグルタチオントランスフェラーゼにまでおよんでいる。

以前から変異原活性化能および発癌性には著しい年齢差や性差がしばしば認められている。このような差異の原因の1つはこれら動物において下垂体ホルモン、殊に成長ホルモンの分泌パターンあるいは肝の受容体レベルが異なっているために起きるホルモン依存性酵素(群)の含量の違いに由来するものと考えられる。この様な内分泌ホルモンによる薬物代謝酵素の調節について我々の実験結果および他のグループから報告された知見について紹介したい。

### C-3 環境変異原発がん物質のリスク評価

林 裕造(国立衛生試験所・病理)

リスク評価とは既存の知見に基づいて対象とする物質のヒトに対するリスクを推定する作業であり、作業の過程は、1)障害性確認hazard identification, 2)曝露評価exposure assessment, 3)用量作用評価dose-response assessment及び、4)リスク判定risk characterizationに分けられる。従ってリスク評価の結果が適切であるか否かは入手し得る知見の質と量に依存していると言える。環境変異原発癌物質の場合には、提供される知見は各種変異原性試験の結果が中心となり、長期動物試験の成績と環境中における存在実態のデーターが添えられるに過ぎない。リスク評価では不十分な知見を補う為に仮定(推論の規則)を設定する手段がとられるが、ここにリスク評価の盲点がある。誤りの仮定は誤りの評価を生む可能性が高いからである。科学的作業と思われ勝ちなリスク評価の過程の中に多くの不確定要因が介在している事実を認識する必要があろう。以上の観点から、リスク評価についての現状における対応と将来展望について触れたい。

## 口演

## O-1

### コーヒー煎り豆におけるMeIQの生成とその含量

○高橋伸也、加藤哲太、菊川清見  
(東京薬大)

我々は先の本学会においてコーヒー煎り豆中にヘテロサイクリックアミン様変異原物質が存在し、これらは2つのフラクション(A, B)に分離され、Aフラクションに存在する変異原物質がMeIQである可能性を示した。今回、この変異原物質を更に精製、同定しその含量を求めた。その結果、AフラクションについてHPLCでrechromatographyにより単離した変異原物質はcochromatography及びUV吸収スペクトルにおいて、いずれも標品MeIQと一致した。変異原活性からMeIQ含量を算出した結果、市販コーヒー煎り豆(Moca)、市販炭火焼コーヒー煎り豆で各々、0.16ng/10g、0.32ng/10gであった。また、高温加熱したコーヒー煎り豆では1.5ng/10gであった。

高温加熱したコーヒー煎り豆では特にBフラクションの活性が強く、この活性は亜硝酸処理により約40%にまで減少した。このフラクションには少なくとも3種類以上の変異原物質が含まれることが明らかになった。これらの変異原物質のうち最も変異原活性の強いピークについて更にrechromatographyによる精製を行い、その本体について検討を行った。

1(6)月

第2回研究会

## O-2

### 過酸化水素共存下における $\alpha$ -ジカルボニル化合物の反応性と変異原性について

○糠谷東雄<sup>1</sup>、岩見禎彦<sup>1</sup>、辻邦郎<sup>1</sup>、小菅卓夫<sup>1</sup>、  
諏訪芳秀<sup>2</sup>、若林敬二<sup>3</sup>、長尾美奈子<sup>3</sup>、杉村隆<sup>3</sup>  
(<sup>1</sup>静岡薬大、<sup>2</sup>サントリー(株)研究所、  
<sup>3</sup>国立がんセンター)

メチルグリオキサールの変異原性は過酸化水素の共存によって増強される。また、両者の共存によってグアノシンおよび2'-デオキシグアノシンは2位のアミノ基がアセチル化され、さらに、このグアノシンの修飾がインスタンントコーヒーの溶液中でも起こることを昨年度の本学会で報告した。今回は、この修飾反応がメチルグリオキサールによってのみ特徴的に起こる反応であるのか、あるいは $\alpha$ -ジカルボニル化合物に共通した反応であるのか検討を加えたので報告する。

$\alpha$ -ジカルボニル化合物として、 $\alpha$ -ケトアルデヒド(グリオキサール)型のメチルグリオキサールとフェニルグリオキサール、 $\alpha$ -ジケトン型のジアセチルとフェニルプロパン-1,2-ジオノンを用いて、過酸化水素の有無によるグアノシンおよび2'-デオキシグアノシンの2位のアミノ基の修飾について検討した。その結果、このアセチル化及びベンゾイル化は $\alpha$ -ケトアルデヒド化合物のみに起こり、 $\alpha$ -ジケトン型の化合物には起こらなかった。また、これらの化合物の変異原性については、グリオキサールを始めとする $\alpha$ -ケトアルデヒド化合物だけが過酸化水素の添加によって増強された。以上の事実は、過酸化水素による $\alpha$ -ケトアルデヒド化合物の変異原性の増強に、2'-デオキシグアノシンのアシル化による修飾が関係している可能性を示唆している。

## O-3

ごみ焼却炉よりのジニトピレンの排出

○神谷明男, 小瀬洋喜, 佐藤孝彦 (岐阜薬科大学公衆衛生学教室)

演者らはごみ焼却炉排気ガス中に *Salmonella* TA-98に対する直接変異原の存在することを認め、窒素選択型キヤピラリーゴーによりこれが 1,6-dinitropyrene(1,6-DNP)であることを認めた。

連続式焼却炉からは検出されなかつたが、バッチ式焼却炉から検出し、定量の結果、ごみ焼却炉の煤煙から  $0.044\text{ug/l}$  の 1,6-DNP が検出した。煤煙を活性炭で吸着、捕集し、ベンゼンーエタノールで抽出した試料についての量-反応曲線より求めた値と、TA-98に対する 1,6-DNP による復帰コロニー数とは殆ど一致し、煤煙中の直接変異原性はほとんど 1,6-DNP に依存していることを認めた。

そこで pyrene と  $\text{NO}_2$  との気相反応による 1,6-DNP の生成条件について検討し 1-nitropyrene(1-NP) と比較した。1-NP と DNP とでは大きな差があることが見いだされた。1-NP は光照射に關係なく pyrene と  $\text{NO}_2$  との接触で容易に生成するが、DNP は触媒がないと生成しにくく、かつ十分な光照射、熱エネルギー、反応時間が必要であった。

## O-4

大気中浮遊粉塵の変異原性と変異原抑制性

○岩藤弘子<sup>1</sup>, 内藤允子<sup>1</sup>, 早津彦哉<sup>2</sup> (<sup>1</sup>岡山県環境保健センター, <sup>2</sup>岡山大・薬)

浮遊粉塵中の変異原性は一般に超音波抽出法で測定されており物質も種々同定されているが、最近では物質間の相互作用も注目されている。我々は三環以上の多環性化合物を特異的に抽出する blue cotton を用いた方法を大気に応用し、超音波法と比較したところ高濃度領域まで blue cotton 法では量反応関係が保たれた。また超音波抽出タール中に変異原性と同時に変異原抑制性を見出したこと報告する。

方法 浮遊粉塵は Hi-Vol エアーサンプラーを用い石英ろ紙上に捕集した。超音波法はメタノールで超音波抽出し、溶媒留去後得たタールを試料 1 とした。Blue cotton 法はそのタールを DMSO、蒸留水で溶解し blue cotton 抽出し試料 2 とした。抽出残液は凍結乾燥後 DMSO で溶解し試料 3 とした。試料 1, 2, 2+3 の変異原性を Ames 法で比較した。結果 試料 1 (超音波法) の変異原性は  $27\text{mE}$  までは高値を示し量反応関係が保たれたが、さらに高濃度の範囲では横ばい状態で時に killing が観察された。試料 2 (Blue cotton 法) では  $270\text{mE}$  のような高濃度範囲まで量反応関係が保たれ、killing もなく高値を示した。試料 2 に試料 3 (抽出残液) を加えると試料 2 の変異原性が低下した。また試料 3 は 2-nitrofluorene, B(a)P の変異原性も抑制した。よってこの残留物中に変異原抑制物質の存在が示唆された。

## O-5

土壤の変異原性について

○大山謙一、遠藤立一、川原浩

(東京都環境科学研究所 保健部)

【目的】 表層土壤の汚染状況は、間接的に大気汚染状況を反映している可能性がある。そこで沿道緑地帯等に存在すると考えられる黒土、培養土、赤玉土、鹿沼土、腐葉土等の土壤の変異原性を調べた。次に、土壤中の変異原物質の変動と抽出度の概観を把握する手段として土壤と 2-Nitrofluorene (2-NF) または Benzo(a)pyrene (B(a)P) を混合して、変異原性の変化について検討した。

【方法】 土壤を室温で送風乾燥し、ポールミルで粉碎した後、ふるいを通して粒径 0.5mm 以下の粉末にした。これをベンゼン・エタノール (3:1 V/V) で超音波抽出して得られたタールを Dimethyl Sulfoxide (DMSO) に溶解し検体とした。変異原性試験は TA100、TA98、TA98NR、TA98/1,8-DNP<sub>6</sub> を測定菌株として用い、Pre-incubation 法でおこなった。混合変異原物質は、抽出用ベンゼンに溶解させた。

【結果】 今回使用した土壤の変異原性はいずれも TA98(-)S9 で非常に低く、TA98NR で高かった。2-NF を混合した培養土や腐葉土では TA100(-)S9、TA98(-)S9 で土壤と 2-NF の変異原性の単純合計値よりも低下する傾向が見られた。B(a)P の場合は培養土と腐葉土において TA100(+)S9 で増加する傾向が認められた。

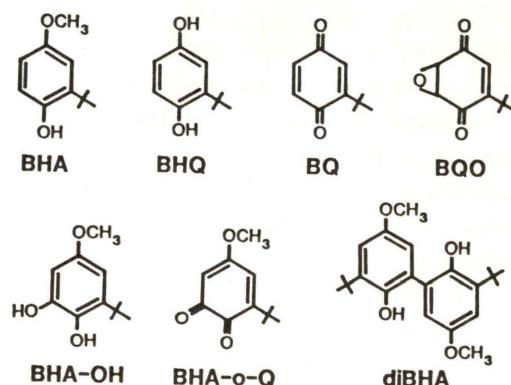
## O-6

BHA 及びその代謝物の in vitro 染色体異常誘発性について

○松岡厚子<sup>1</sup>、宮田直樹<sup>2</sup>、祖父尼俊雄<sup>1</sup>、石館基<sup>1</sup> (国立衛試 <sup>1</sup>変異原性、<sup>2</sup>合成化学)

抗酸化剤 BHA の変異原性については、これまでにいくつかの報告があるが、ほとんど陰性におわっている。しかし、CHO 細胞については S9 mix 存在下で染色体異常を誘発するという報告がある (Phillips et al., 1987)。今回、BHA 及び当所で合成した 6 種の代謝物について、CHL 細胞を用いる染色体異常試験を行った。

BHA は、S9 mix 存在下でのみ染色体異常を誘発した (11%, 0.125mg/ml)。6 種の代謝物のうち、BHA-OH (25%, 0.02mg/ml), BHA-o-Q (24%, 0.02mg/ml), BQO (11%, 0.002mg/ml) は S9 mix 非存在下で、BHQ (19%, 0.04mg/ml), BQ (11%, 0.02mg/ml) は S9 mix 存在下で染色体異常を誘発した。diBHA は、0.2mg/ml (溶解限界) まで添加したが毒性も染色体異常誘発性も示さなかった。diBHA 以外の化合物はいずれも低濃度で細胞毒性を示したが、最高処理濃度でも染色体異常誘発頻度は比較的低かった。BHA の染色体異常誘発性には、BHA-OH, BHA-o-Q, BQO が関与している可能性が示唆された。



## O-7

*Drosophila melanogaster*による  
cycasin, degraded carageenanの変異原性  
*Asai et al.*

古川秀之<sup>1</sup>、○河井一明<sup>1</sup>、広野巖<sup>2</sup> (名城  
大・薬)、<sup>2</sup>藤田学園保健衛生大・医)

*Drosophila wing spot test*は、体細胞突然変異を短期間に検出でき、また*Drosophila*が消化管を有する昆虫であることもあり、Ames test negative, 発癌性positiveのcycasinやdegraded carageenanについて*wing spot test*で変異原性検出の可能性を検討したい。

cycasin 10  $\mu\text{mol/g}$  (medium)によるwing 1枚あたりの体細胞突然変異spot出現頻度は small single spot (SS) 1.13, large single spot (LS) 0.11, twin spot (TS) 0.04 (controlはSS 0.24, LS 0.02, TS 0.01)であり、SSに対するLS及びTSの出現比率は 0.13で加熱変異原によるもの<sup>1)</sup>とほぼ同等であった。また、TSの出現頻度がcontrolに比べ高くなっていることより、遺伝子突然変異のみでなく、染色体組換による体細胞突然変異も起こっていると考えられる。一方、degraded carageenanはラットのエサに5%の割合で混合することにより発癌性が検出されている<sup>2)</sup>が、*Drosophila melanogaster*に同濃度で与えるとサナギから羽化しなくなった。cycasinは腸内細菌による $\beta$ -グリコシド結合切断の後に変異原性を示すことから、*Drosophila wing spot test*では同時にグリコシド結合切断も行われているものと考えられ体細胞突然変異positive, 発癌性 positiveと一致し short term testとして有利である。

references; 1) M.A. Yoo, et al., *Jpn. J. Cancer Res.*, 76, 468-473 (1985). 2) K. Wakabayashi, et al., *Cancer Letters*, 4, 171-176 (1978).

## O-8

ペルオキシゾーム増殖剤経口投与によるラット肝の8-ヒドロキシデオキシグアノシン (8-OHdG) の生成

○高木篤也<sup>1</sup>、佐井君江<sup>1</sup>、梅村隆志<sup>1</sup>、  
黒川雄二<sup>1</sup>、(国立衛試・毒性)、葛西宏<sup>2</sup> (國立ガンセンター・生物)

ペルオキシゾーム増殖剤はラット、マウスに肝発癌作用を有することが知られている。その機序としてペルオキシゾームの増加により産生される過剝の過酸化水素によるDNA傷害が疑われているが、今までその証明は不十分とみなされている。一方最近、酸素ラジカルによりDNA中に8-OHdGが生成されることが報告されている。そこで我々はラットに3種のペルオキシゾーム増殖剤を投与して、肝DNA中の8-OHdGを測定したところ、有意な増加が認められたので報告する。

実験は1群3匹の生後6週令雄F-344ラットを一夜絶食後、Diethylhexylphthalate (DEHP) 15,45g/Kg, Clofibrate 500, 1500mg/Kg, Simfibrate 2000, 6000mg/Kgをそれぞれ単回強制経口投与し、1, 2, 3, 5, 7日に肝臓中の8-OHdGを測定した。その結果、DEHP 15g/Kg投与群の5日目およびSimfibrate 2000mg/Kg投与群の1, 2, 3, 5日目および6000mg/Kg投与群の5日目と7日目でそれぞれ有意な増加を認めた。

以上の結果、ペルオキシゾーム増殖剤による肝発癌に活性酸素が関与している可能性が強く示された。現在更に8日間連続経口投与による検討を行っている。

## O-9

変異原物質の極微弱発光の性質と発光機作について。

長田和実<sup>1)</sup>、木村修一<sup>1)</sup>、菱沼宏哉<sup>2)</sup>、稻場文男<sup>2), 3)</sup>  
(東北大農 栄化<sup>1)</sup>、新技術開発事業団<sup>2)</sup>、  
東北大 電通研<sup>3)</sup>)

前回までの報告では、変異原性をもつ芳香族炭化水素はその代謝にともない極微弱発光を生じ、それにはP-450以外にエポキシドヒドローゼが関与している可能性を報告した。またスペクトル解析の結果、それらの極微弱発光は、代謝の結果生じたジオキセタン体が解製してできた3重項カルボニルによるものであることや、ラジカルスカベンジャーを用いた検索では1重項酸素の関与が示唆されたことなどを報告した。そこで今回は変異原性物質の極微弱発光の性質と発光機作をさらに明らかにするために 1) 極微弱発光と ames testとの相関関係の検討 2) Aflatoxin 類での極微弱発光の検出 3) 分光感度特性の異なる3種の光電子増倍管を擁する測定機を用いての検索などを行った。その結果、1) 芳香族炭化水素の極微弱発光と変異原性の相関係数は $r=0.78\sim0.85$ であり、かなり高い相関性が認められた。2) Aflatoxin 類も極微弱発光を呈し、それは変異原性に伴うものであることが示唆された。3) 今まで検知できなかった領域でも極微弱発光が発生していることが明らかとなった。これによって、今まで極微弱発光がはっきりとは検出できなかった変異原物質の、少なくとも一部は、検出可能である事が明らかとなった。さらに既知の極微弱発光のメカニズムの解明に重要な手がかりを与えた。

○β-アラル 30% ↓  
○β-アラル 30% ↓  
○β-アラル 30% ↓

## O-10

ニトロアレン、芳香族アミンに高感受性を示す *S. typhimurium* TA98, TA100の新しい誘導株の樹立

○渡辺雅彦、能美健彦、石館 基  
(国立衛試 変異原性)

我々はサルモネラからニトロアレン、芳香族アミンの代謝活性化に関与するニトロ還元酵素、アセチル転移酵素遺伝子のクローニングを行ってきた<sup>1)</sup>。今回は、これら酵素の高生産性をもつ高感受性 *S. typhimurium* TA98, TA100誘導株を新しく樹立したので報告する。

pYG111<sup>1)</sup>よりニトロ還元酵素高生産性プラスミド pYG216(Tc<sup>R</sup>)、pYG122<sup>1)</sup>よりアセチル転移酵素高生産性プラスミド pYG219(Tc<sup>R</sup>)を作成し、pKM101(Ap<sup>R</sup>)をもつTA98, TA100を形質転換した。形質転換株について、2-ニトロフレン(2-NF)、1-ニトロフレン(1-NP)、1,8-ジニトロフレン(1,8-DNP)、2-ニトロカタレン(2-NN)、4NQO、Glu-P-1、2-アミノアントラセン(2-AA)を用いてAmes試験を行った。なお、最後の2化合物については、ニトロ還元酵素は代謝活性化に関与しないためpYG219をもつ株のみ試験し、同時にS 9を使用した。

TA98(pYG216), TA100(pYG216)は1,8-DNP, 4NQOを除くニトロアレンに対して対照株の4-70倍の感受性を示した。TA98(pYG219), TA100(pYG219)は4NQOを除くニトロアレン、芳香族アミンに対して対照株の3-30倍の感受性を示した。これら4種の高感受性株間の比較を行うと、2-NF, 1,8-DNP, Glu-P-1に対して最も高感受性を示した株は、4株のうちTA98(pYG219)であり、1-NPに対してはTA98(pYG216)、2-NNに対してはTA100(pYG216)、2-AAに対してはTA100(pYG219)であった。

<sup>1)</sup> BBRC, 147, 974-979 (1987)

## O-11 線虫*C.elegans* 変異株の発生阻害を指標にした癌原物質検出系

宗像信生（国立がんセ研、放射線）

細菌に対する突然変異原性の認められない発癌剤のうちには、染色体分離などの真核生物特有の細胞機能を阻害するものや、多細胞動物個体の発生に対する特異的毒性効果を示すものが存在する可能性がある。線虫*C.elegans*は、最も単純で取り扱いの簡単な多細胞動物であり、詳細な研究がおこなわれているので、このような物質を検索し、その作用機作を解明するのに適していると思われる。

アルキル化発癌剤N-nitrosodimethylamineに感受性を与える`rad-3`と`alk-1`の二重変異株は、野生株に比べて約10倍の感受性を示す。孵化したばかりのL<sub>1</sub>幼生を集め、薬剤をふくむ寒天培地上で大腸菌を餌として発育させ、3-4日後に出現する成虫を数える。野生株と二重変異株について、90%阻害する濃度を比較し、後者の感受性が有意に高いものを陽性とする。

この結果、6種のN-nitrosodialkylaminesはすべて陽性であった。さらに細菌に対する突然変異原性が弱いか認められない1種のProblem carcinogensのうち、6種(4-dimethylaminoazobenzene,urethane, hexamethyl phosphoramide,safrole,auramine,diethylstilbestrol)は陽性であった。残りの5種(chloroform,DL-ethionine,ethylenethiourea,3-aminotriazole,o-toluidine hydrochloride)は調べた最高濃度でも阻害が見られないで判定できなかった。陽性物質のうち4-dimethylaminoazobenzeneは最も低濃度で効果を示した。

## O-12 2,8ジハイドロキシアデニン結石症保因者由来リンパ芽球様細胞を用いたAPRT座位突然変異試験

○巽 純一<sup>1</sup>、豊田万里子<sup>1</sup>、藤森 亮<sup>1</sup>、立花 章<sup>1</sup>、有田 泉<sup>1</sup>、鎌谷直之<sup>2</sup>、武部 啓<sup>1</sup>（<sup>1</sup>京大医、<sup>2</sup>東女医大）

ヒト細胞に生ずる自発および誘発突然変異が、指標に選ぶ遺伝子座位の相違によりどの様に異なっているかは未だ十分に明らかでない。そこで、2,8ジハイドロキシアデニン尿路結石症を主症状とする常染色体劣性遺伝病APRT欠損症の保因者から樹立されたリンパ芽球様細胞を用いて、2,6ジアミノプリン抵抗性(DAP<sup>r</sup>)を指標に第16番染色体APRT座位における変異頻度測定が可能な検定系を開発した。薬剤選択の至適濃度は100μM、最大発現は9~10日、得られたDAP<sup>r</sup>変異体はAPRT活性を欠き、再構成試験においてDAP<sup>r</sup>頻度は少なくとも14日間安定であった。同一細胞株で同時に測定したTG<sup>r</sup>抵抗性(TG<sup>r</sup>)自発変異頻度が、1~2 × 10<sup>-6</sup>であるのに対し、DAP<sup>r</sup>自発変異は2~5 × 10<sup>-5</sup>を示した。<sup>137</sup>Cs<sup>γ</sup>線誘発変異を検討した結果、線量増加に伴ってDAP<sup>r</sup>頻度は2.5 × 10<sup>-4</sup>まで上昇し、TG<sup>r</sup>の5~10倍の効率でDAP<sup>r</sup>が誘発されることが判った。すなわちAPRT座位では隣接遺伝子を巻き込む様な大きい欠失を有する変異体が、相同染色体の存在によって生存でき、また組換えや染色体交差による変異体も検出できる可能性が考えられる。ヒト細胞における突然変異誘発の評価は、従来多用してきたTG<sup>r</sup>マーカーのみでは不十分であることが示唆された。

## O-13 癌遺伝子v-Ha-rasを導入したBALB3T3細胞株(Bhas 42)を用いる発癌プロモーター検索系の開発

○佐々木澄志<sup>1</sup>、水沢博<sup>2</sup>、石館基<sup>2</sup>、田中憲穂<sup>1</sup>（<sup>1</sup>食薬安全セ・細胞生物部、<sup>2</sup>国立衛試・変異原性部）

〔目的〕癌原性の予知の点から、イニシエーターに関しては、突然変異や染色体異常を指標にした多くの短期検索法が開発してきた。しかし、プロモーターに関しては、癌化と密接に関係しているにもかかわらず、適切な検索系がまだ確立されていない。我々は、BALB3T3細胞に癌遺伝子v-Ha-rasを導入した細胞株(Bhas 42)を分離した。今回、Bhas 42細胞の形質転換を指標にして、プロモーター検索への応用を検討した。

〔実験方法〕BALB3T3細胞10<sup>4</sup>個とBhas 42細胞10<sup>2</sup>個を同時にシャーレにまいた。8日後にTPAを添加し、2週間処理した。さらに3週間、新鮮培地で培養し、形質転換率を判定した。形質転換率は、コロニー形成率から算出した。

〔結果と考察〕1.形質転換率は、TPAの濃度、処理時間に依存して増加し、再現的であった。2.形質転換率は、牛胎児血清のロットに依存しなかった。3.殆どの形質転換巣は、重なり合い増殖、紡錘状を示し、判定が容易であった。形質転換を指標にしたこれまでの検索系は、再現性の面から不安定な系であることが知られている。Bhas 42細胞を用いた系は、血清のロットに依存せず安定な結果を得るという点、及び形質転換巣の判定が容易であるという点で優れている。しかし、用いたプロモーターの中でBhas 42細胞の形質転換を誘導しないものがあった。このことは、v-Ha-ras遺伝子とプロモーターとの間の特異的相関に関する問題を含んでいる。

## O-14 無アルブミン血症ラットにおけるアルブミン産生肝細胞の出現を指標とした体細胞突然変異検出系

○落合雅子<sup>1</sup>、新田紀子<sup>1</sup>、島 礼<sup>1</sup>、Peter J. Wirth<sup>1</sup>、鈴木美加<sup>1</sup>、長瀬すみ<sup>2</sup>、杉村 隆<sup>1</sup>、長尾美奈子<sup>1</sup>、（<sup>1</sup>国立がんセンター研・発がん、<sup>2</sup>佐々木研）

無アルブミン血症ラット(NAR)では、アルブミン構造遺伝子のイントロンに7塩基対の欠損があり、アルブミンを産生しない。加令と共にアルブミン陽性細胞は増加する。3'-MeDABの投与により陽性細胞が著しく増加する。Glu-P-1及びMeIQx投与による陽性細胞に及ぼす影響を調べた。

雄NARに各々0.05%Glu-P-1、0.04%MeIQx、0.06%3'-MeDABを混入した飼料を投与した。肝臓をホルマリン固定し、抗ラットアルブミン抗体を用いて免疫染色を行い、アルブミン陽性細胞の出現率を経時的に調べた。投与後19週では、陽性細胞の出現率は、無処置、Glu-P-1、MeIQx、3'-MeDAB投与群で各々、1.6、22.7、15.7、21.6/10<sup>3</sup>細胞であった。陽性細胞は度々clusterを形成していた。20以上からなるclusterを形成する頻度は、Glu-P-1、3'-MeDAB投与群で各々、1.2および8/10<sup>5</sup>細胞であった。一方、無処置群およびMeIQx投与群では見られなかった。いずれも同程度の復帰突然変異を示すが、クラスター形成能の違いが発がんのプロモーション作用と関係しているか検討中である。又、復帰突然変異の機構も解明中である。

## O-15 マウス受精卵の発生におよぼす合成洗剤AS, LASの影響

○石井裕<sup>1</sup>, 鮫島義弘<sup>2</sup>, 佐治文隆<sup>2</sup>, 野村大成<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>阪大医放基, <sup>2</sup>阪大医産婦科)

合成洗剤AS (Alcohol Sulfate), LAS (Linear Alkylbenzene Sulfonate) を妊娠メスマウスの妊娠初期に塗布すると死亡胚、回復不能の変形胚が高頻度に誘発され、妊娠中断の原因となっている。その頻度は投与量とともに増加する。AS, LASの初期胚そのものの影響を、体外受精、体外培養の系を用いて検討した。

B6C3F1メスマウスより排卵誘発剤を用いて未受精卵をとり出し、C3 101F1オスマウスからの精子と体外受精させ、受精開始5時間目に第二極体放出を指標として受精卵を集めめた。AS, LAS処理は、受精卵採卵後の1時間処理と、培養液中の継続処理の二通りで行った。発生の指標は培養による胞胚形成能である。1時間処理の場合、AS, LASとも0.025%以下では対照群と発生に差はなかったが、0.05%の処理ではAS, LASとも1細胞期から先へは全く発生が進まなかった。培養期間中の継続処理でも同様の結果を得た。0.1%になると透明帯ははすれ、培養を続けると卵そのものが溶けてしまう。

AS, LASは0.025%と0.05%の間にしきい値があるものと思われる。しきい値以上ではまさしく界面活性剤としての直接作用と考えられ、X線などの場合と大きく異っている。以上のin vivoおよびin vitroの実験結果より、哺乳類の初期胚は環境有害物質の攻撃に極めて弱いことが確認された。

## O-16

Protein analysis of hereditary hepatitis rats by 2D-PAGE electrophoresis

○Yoshinori Fujimoto, Peter J. Wirth, Kimimaro Dempo, Michio Mori, Minako Nagao and Takashi Sugimura (Carcinogenesis Division, National Cancer Center Research Institute, Sapporo Medical College)

The LEC rat strain exhibits 100% incidence of hepatitis associated with severe jaundice. Hepatitis occurs spontaneously in adult rats 3-4 months in their age after which 50% die from hepatic failure. In surviving animals, 100% develop liver cancer. In an attempt to elucidate the pathogenic mechanism(s) responsible for the development of hepatitis, the qualitative and quantitative differences in hepatic protein expression in normal (LEA) and LEC rats were compared using two-dimensional electrophoresis. Approximately 1000 cytosolic and 1000 particulate polypeptides were detected over the pH range 4.5-7.0 and molecular weight range (Mr) 18-120 kDa. Polypeptide patterns from age-matched (1d, 2, 8, 12, 15, 16, 24w) LEA and LEC livers were very similar although both qualitative and quantitative differences were noted. One constitutively expressed cytosolic polypeptide was not detected in LEC livers at any age. Analysis of the nature of this protein should provide insight as to its involvement in hepatitis development in LEC rats. This LEC rats will be a good animal model to detect environmental mutagens/carcinogens which may involve with human hepatocarcinogenesis.

## O-17

新しい変異原性物質吸着剤Green-Sepharoseの作成と吸着機構の解明

早津彦哉, ○糸目千穂, 有元佐賀恵(岡山大, 葉)

【目的】クロロフィリン銅ナトリウム (Chl-Cu)が, Trp-P-2や, N-OH-Trp-P-2のAmes Testにおける変異原性を抑制することを明らかにした。その抑制のメカニズムに関連し、今回、クロロフィリン銅ナトリウム Sepharose (Green-Sepharose)を作成し、変異原物質の吸着、回収ならびにその吸着機構について調べたので報告する。

【方法】カーボジイミドカップリングにより、Chl-Cuのカルボン酸基とAIH-Sepharoseのアミノ基を結合させ、Green-Sepharoseを作成した。Green-Sepharoseに対する多環変異原物質の0.1Mリン酸Na, pH 7.4, 中での吸着とその回収について検討した。さらに、解離定数の測定を次の方法で行った。すなわち、変異原溶液(20mM Tris-HCl buffer, pH 9.0)に、Green-Sepharoseを種々の量加え、吸着量を吸光度により測定した。また、一定量のGreen-Sepharoseに種々の量のTrp-P-2を加え、同様に吸着量を測定した。

【結果・考察】Green-Sepharoseには、Trp-P-1, Trp-P-2, 2-aminofluorene, 2-acetylaminofluorene, 9-aminoacridine, quinacrineが吸着することがわかった。また、吸着させた変異原は、pH4の酢酸バッファーで、溶出が可能であることがわかった。また、Trp-P-2を用いて解析した結果、Kd(解離定数)は、 $6 \times 10^{-5}$  Mであった。Chl-CuがTrp-P-2を吸着することと、変異原性阻害とに、関連のあることが示唆される。

## O-18

変異原のRice Fiberへの吸着

○世良暢之<sup>1</sup>, 森田邦正<sup>1</sup>, 堀川和美<sup>1</sup>, 常盤寛<sup>1</sup>, 若林敬二<sup>2</sup>, 大西克成<sup>3</sup> (<sup>1</sup>福岡衛公センター, <sup>2</sup>国立がんセンター, <sup>3</sup>徳大・医・細菌)

【目的】変異原物質の腸管内排除を目的として、食物繊維に対する変異原及び非変異原物質の吸着能を検討した。

【方法】Rice Fiber (RF) は、米ぬかを原料として酵素法によって調整した。対照にはCellulose及びCorn bran (CB) を用いた。吸着方法は、Cellulose, CB及びRFを10mg/mlに調整し、変異原 1 μg/mlの溶液 (Methanol:水=1:1) を加え、37°C, 30分間インキュベートし、遠心分離後、上澄の変異原残存濃度をHPLC、又は変異原性によって測定した。

【結果と考察】変異原のRFへの吸着は、20-50°Cの温度域に影響されなかったが、ある種の変異原 (Trp-P-1等) はpH、塩濃度により吸着率が低下した。RFへの吸着率は、芳香族ニトロ化合物では、83.5-91.2%, ヘテロサイクリックアミン類では、81.7-89.3%, フラボノイド系化合物では、89.1-89.8%と非常に高く、ホルムアルデヒド、ビタミンC等では吸着しなかった。吸着したRFは、腸管内の好気性、嫌気性細菌の存在下でも影響は認められなかった。また、吸着された変異原は、蒸留水、緩衝液、吸着溶媒等によっては抽出されず、メタノール-アンモニアでのみ90%以上の再抽出が可能であった。これらの食物繊維は、多孔質で表面積の大きい構造をとり、変異原を強く吸着し、好気性菌及び嫌気性菌等によっては消化されないことから、大腸癌や直腸癌の一次予防に適していると考えられる。

## O-19 ダイエタリーファイバーの変異原吸着作用 - in vitro/in vivoの比較 -

○蜂谷紀之, 権太浩, 滝澤行雄  
(秋田大・医・公衛)

食物中に含まれる非消化性の纖維成分すなわちダイエタリーファイバー(DF)の中には癌原物質による実験大腸癌の発生を抑制するものがあり、また疫学的にも発癌予防効果が示唆されているものがある。本研究ではDFのうち変異原吸着性が報告されているトウモロコシ精製ふすま(RCB: Mut. Res., 204, 263, 1988)を用い、DFの発癌抑制機構との関連から、特に in vivoにおけるこのdesmutagen効果の有効性を検討した。

in vitroでは、RCBは調べた16種類の変異原のうちTrp-P-1, Trp-P-2, Glu-P-1, Glu-P-2, IQ, dinitropyrenes(DNPs)、B(a)Pなどに対し95%以上の吸着性を示し、これらはmethanol:NH<sub>4</sub>OH(50:1)により66.2~100%が遊離した。一方、MNNG, ENNG, NaN<sub>3</sub>などの吸着率は20%未満であり、吸着体からの上記溶媒による溶出性もまた低かった。さらに2 mmolりん酸緩衝液中のRCB-IQ吸着体からはpHに依存してIQが溶出し、pH2.0では74.2%が遊離した。

ラット排泄物における変異原活性は、糞便をRCB、水溶性、その他残渣の3分画に分け、尿とともに、溶媒抽出法もしくはBlue Cotton法によって変異原を分離しこれを測定した。RCBに吸着させて投与したTrp-P-1の変異原性のうち糞から回収されたのは0.81%、尿中2.77%で、うち糞便RCB分画では0.47%に過ぎなかった。同様の結果はIQ、DNP吸着RCBでも見られた。in vivoとin vitroの差異について考察する。

## O-20 亜硝酸捕捉剤チオプロリン摂取によるヒト及びラット体内ニトロソ化反応の動態

○津田充宥, 加藤珠実, 倉島由紀子, 杉村隆  
(国立がんセンター研・生化)

ヒト尿中には、N-nitrosoproline、N-nitrosothioproline(NTPRO、非変異原性)及びそのメチル体等が常在している。これらヒト尿中ニトロソ化合物の大部分は、体内生成に由来している。ヒト体内でのニトロソ化合物生成反応は、硝酸塩摂取量、胃液pH、更に、促進物質(SCN<sup>-</sup>)や抑制物質(V.C)等の諸要因により影響を受ける。本研究では、ヒト体内でのニトロソ化合物生成能評価に対するチオプロリン(TPRO)の有効性の検討並びにラットによる体内ニトロソ化反応の動態把握に関する試みを行った。

ボランティア(成人男子)に規定食下、NaNO<sub>3</sub>(340 mg)、続いてTPRO(10 mg)を摂取させた後、12-h尿を採取した。尿中NTPROは、著者らの既報に従い、GC-TEAにより定量した。硝酸塩-TPRO併用摂取の際の尿中NTPRO排泄量は、平均165 μg/12-h(n=3, 60~320)であった。硝酸塩又は、TPRO単独摂取の際の同排泄量は、15 μg/12-h以下であった。これらの結果から、ヒト体内でのTPROのニトロソ化は明白であった。又、TPROの体内亜硝酸捕捉能は、プロリンに対する報告値に比して約1000倍大きかった。TPRO摂取量を増やした実験結果も報告する。

一方、F334ラット(♂, 6 W)にNaNO<sub>3</sub> 20 mg/kg.bw、15分後にTPRO 20 mg/kg.bwを胃内投与した際のTPRO排泄量は2.3±0.7 μg/24-hであった。この際、KSCN 15 mg/kg.bw、又は食塩100 mg/kg.bwの併用投与は、ラット尿中NTPRO排泄量を減少させた。この結果は、体内ニトロソ化の抑制を示唆する一例として、興味深い知見である。

## O-21 キノリンの変異原性と解毒代謝とに及ぼす置換基の効果

○仙石葉子、神谷昌嗣、高橋和彦、幸田光復、川添 豊(名市大・薬)

都市大気中に存在するキノリンには発癌性、変異原性が知られている。我々はすでに、解毒代謝及び変異原性代謝経路について報告し、それに与える置換基効果についても報告してきたが、その後に得られた結果について報告する。

F, Cl, Br及びCH<sub>3</sub>基を有する種々のモノ置換キノリンを合成し、その変異原性をラット肝S9存在下、サルモネラ菌TA100を用いて検討した。

【結果】(1)2-または3-位ハロゲン置換体には変異原性が検出されない。(2)上記以外の位置のハロゲン置換体にはすべて変異原性が検出される。(3)メチル置換体にはすべて変異原性が検出され、2-および3-置換体も例外では無かった。(4)ハロゲン置換体の内、Cl-体及びBr-体には著しい細胞毒性の増強が見られたのに反して、F-置換体には見られ無かった。(5)いずれの置換体についても代謝速度には大きな差異は見られず、K<sub>m</sub>値は10<sup>-4</sup>Mオーダーであった。

【結論】上記の結果とすでに報告した結果とを総合すると、キノリンの変異原性代謝活性体は、1,2,3,4-tetrahydro-4-hydroxyquinoline 2,3-epoxideであると推定され、この活性化過程は 5,6-dihydroquinoline 5,6-epoxideを経由する解毒過程に比べて極めてminorな過程であり、2-または3-位にハロゲンを置換する事により変異原性活性化過程のみが効果的に阻害され、変異原性が失われる事が明らかとなった。

## O-22 9-Hydroxymethyl-10-methylanthracene の sulfotransferase による代謝活性化

○奥田晴宏、吉岡 新、渡部 烈(東京薬大・2衛生化)

【目的】我々は、発癌性メチル置換多環状芳香族類の主代謝物ヒドロキシメチル体が、PAPS共存下、ラット肝被透析可溶性画分(S105)中のsulfotransferase(STase)により対応する硫酸エステルへ活性化される機構を明らかにした。

今回は、発癌物質9,10-dimethylanthraceneのP-450による主代謝物9-hydroxymethyl-10-methylanthracene(9-HMA)のSTaseによる活性化機構を明らかにすることを目的とした。

【方法】9-HMAの変異原性試験は、*S. typhimurium* TA98株を用い、S105-PAPSあるいはS9-NADPH系共存下を行った。S105-PAPS系において9-HMAから生成する9-HMA sulfate、あるいはその0.1M phosphate buffer, pH 7.4(PB)中での分解物9-HMA phosphateは、それぞれhplcにより合成標準と同定した。

【結果】9-HMAはS9-NADPHよりもS105-PAPS系共存下ではるかに強い変異原性を示し、後者の系より直接変異原性を有する硫酸抱合体9-HMA sulfateが単離・同定された。9-HMA sulfateはきわめて反応性に富み、PB中では、非酵素的に速やかに(半減期<2 sec, 37')硫酸基が脱離し、9-HMAへ加水分解されると共に、リン酸の求核置換体9-HMA phosphateをあたえた。同条件下、9-HMAと9-HMA phosphateの生成比は4:1であった。9-HMA phosphateも9-HMA sulfateよりは弱いが、直接変異原性を示した。

【結語】9-HMAはS105のSTaseにより直接変異原9-HMA sulfateへ活性化され、さらにPB中では9-HMA phosphateに変換される。

## O-23 Contribution of externally added hepatic cytosol on the Ames mutagenesis test

Abu-Zeid Medhat, Yamazoe Yasushi and Kato Ryuichi (Keio Univ., Sch. of Med., Dept. of Pharmacol.)

In Ames mutagenesis test, addition of hepatic cytosol often resulted in the increase in the number of arylamine-induced revertants. Recent results on the esterification of N-hydroxy-arylamines in bacterial cells suggest the possibility that exogenously added cytosol may also take a part in the activation of arylamines not only by N-hydroxylation but also by esterification of N-hydroxy-derivatives. Therefore, we have studied to assess the contribution of hepatic cytosol in Ames mutagenesis test. The numbers of revertants induced by N-hydroxy-derivative of Glu-P-1 or IQ were enhanced 1-6-fold in the presence of rat hepatic or bacterial cytosols toward TA98<sub>1,8</sub>DNP<sub>6</sub> and to a lesser extent toward TA98. On the other hand, inhibition or nonsignificant effect was shown with N-hydroxy-derivative of AF or Trp-P-2. In case of N-hydroxy-Glu-P-1, this effect did not depend on the amount of cytosolic protein. The involvement of cytosol in the esterification pathway was examined by the addition of acetyl CoA or PAPS (DNA-binding cofactors). Acetyl CoA appeared to have a recognizable role in the presence of cytosol on TA98<sub>1,8</sub>DNP<sub>6</sub> and a lower effect on TA98 with N-hydroxy-derivative of Glu-P-1 or IQ, whereas no significant effect with N-hydroxy-Trp-P-2 or N-hydroxy-AF. PAPS showed a weaker effect than did acetyl CoA with both N-hydroxy-Glu-P-1 or N-hydroxy-IQ. The results show minor involvement of hepatic cytosol on the esterification pathway of carcinogen in *Salmonella* mutagenesis test.

## O-24 発癌性芳香族アミンの代謝活性化に関する研究—動物におけるN-ホルミル化

○辰巳 淳、北村繁幸、天野浩貴<sup>1</sup>、上田健治<sup>2</sup>、奥村文和、藤本隆志（広島大・医・薬、<sup>1</sup>現湧永製薬、<sup>2</sup>現参天製薬）

従来、発癌性芳香族アミンの活性化をもたらす一連の代謝反応として、N-アセチル化、N-水酸化、N-O-アセチル基転移、硫酸抱合などが知られている。一方、N-hydroxy-2-amino fluoreneなどのN-ホルミル体は相当するN-アセチル体よりも変異原性が強く、且つ、発癌性を示すことが見出されている。従って、発癌性芳香族アミンの一般的代謝反応として、N-ホルミル化が起こるのであれば、本アシル化反応もN-アセチル化と同様に、代謝活性化の重要な第一段階となる可能性が強い。本研究ではこのような観点から、N-ホルミル化に注目し、発癌性芳香族アミンの代謝につき詳細な検討を加えた。

4-aminobiphenyl, 2-aminonaphthalene, 2-aminofluoreneあるいは1-aminopyreneを経口投与したウサギ、ラットおよびモルモットの尿または糞より、相当するN-アセチル体と共に、N-ホルミル体を単離同定した。この事実は、N-ホルミル化がこれらの発癌性芳香族アミンに共通した代謝反応であることを示すものである。また、定量実験の結果、これらのN-ホルミル体およびN-アセチル体の排泄量は予想外に少ないことが判ったが、これはこれらのN-アシル体がいずれも容易に更に代謝されることに起因することを突き止めた。一方、in vitroでは種々の芳香族アミンが、各種動物肝サイトソールおよびN-formyl-L-kynurenoneによって容易にN-ホルミル化されること、また、この活性は肝formamidaseによるものであることを示した。

## O-25 変異原物質の代謝的活性化に関するラットの P-448-Hに対応するイヌ、サルおよびヒト肝ミクロソームのチトクローム P-450分子種

○太田 和秀、北田 光一、大井 浩明、小森 雅之、鎌滝 哲也（北大薬）

代表的蛋白加熱分解物であるTrp-P-2、Glu-P-1のラット肝ミクロソーム (Ms) による代謝的活性化能はラットを PCBで前処理することにより増大する。また、PCB処理ラット肝Msから精製したP-448-H (P-450d)は前述の代謝的活性化能が極めて高く、本酵素は毒性学的に重要なチトクローム P-450分子種である。そこで今回、ラットの P-448-Hと類似の免疫化学的性質を有するチトクローム P-450分子種がイヌ、サル、ヒト肝Msにも存在するか否か、その分子種は P-448-Hと同様、変異原物質の代謝的活性化に関与しているか否かについて検討した。また、ラット、イヌ、サルについては PCB処理の影響についても併せ検討した。

全ての動物種の肝Msにより Glu-P-1や10等の代謝的活性化が認められた。イヌ、サル、ラットを予め PCB処理すると肝MsのTrp-P-2、Glu-P-1の変異原活性化能は著しく増大した。ウェスタンプロット分析から、ヒトを含めた各動物の肝Msに P-448-H抗体と反応する P-450 分子種が存在し、PCB処理したイヌ、サル肝Msで著しい誘導が認められた。P-448-H抗体は程度の差はあるが、ラット、イヌ、サル肝Msによる Trp-P-2および Glu-P-1の代謝的活性化を未処理の場合も PCB処理の場合も阻害した。さらに、ヒト肝Msによる Glu-P-1および10の代謝的活性化は P-448-H抗体添加で阻害された。これらの結果から P-448-Hと類似の免疫化学的性質を有する P-450分子種がヒトを含めた動物種に広く存在し、その触媒活性も変異原物質の代謝的活性化という毒性学的に重要な機能をもつ分子種であることが示唆された。

## O-26 活性酸素生成を伴うN-dimethyl-nitrosamineの変異原性発現機構

○古川秀之、河井一明（名城大・薬）

N-dimethylnitrosamineは臓器特異的な発癌性を有するが、変異原性は弱く、エイムステストにおいて 1000 μg/plate位の著量を用いなければ変異原性を示さず、不思議なことである。

筆者らはN-dimethylnitrosamineの変異原性試験 (*Salmonella typhimurium* TA100, +S9)を暗室で行うと、2000-2500 revertants/2500 μg/plate程度のかなり強い変異原性を示すことを見出した。明るい実験室で行うと 150-200 revertants/2500 μg/plate程度である。一般に生体の発癌部位は体表面を除けば暗い部位ばかりであるから N-dimethylnitrosamineは今迄知られている変異原活性よりは強い活性を持つと考えた方がよさそうである。N-dimethylnitrosamineのpreincubationを暗室で行うと、Nitroblue tetrazolium法による測定で活性酸素(O<sub>2</sub><sup>•</sup>)の生成が観察され、superoxide dismutase, α-tocopherol, uric acid, sorbitol或はglutathioneなどでN-dimethylnitrosamineの変異原性が抑制を受けることから、暗室操作では活性酸素分子種が生成し、変異原性発現に寄与していることが判った。従ってN-dimethylnitrosamineの変異原性発現機構にはLijinsky<sup>1)</sup>のDNAメチル化機構の外に、活性酸素分子種の生成に依る変異原性発現機構が在ることを指摘したい。

reference; 1) W. Lijinsky, J. Loo and A. E. Ross; *Nature*, 218, 1174-1175(1968)

## O-27 近紫外線(UVA)と化学物質による大腸菌umu遺伝子の誘発

○杉村佳洋子<sup>1</sup>、岩本サカエ<sup>2</sup>、橋本昇次<sup>1</sup>、大西武雄<sup>1</sup>（<sup>1</sup>奈良医大、<sup>2</sup>奈良衛研）

大腸菌のumu遺伝子は誘発突然変異に重要な働きをしている。この遺伝子はrecA遺伝子やlexA遺伝子でコントロールされるSOSキニコンの1つと考えられている。紫外線をはじめ、多くのDNA損傷剤によって誘発されるので、突然変異原の検索にも利用されている。ほんとうにこのumu遺伝子を誘発するような作用や化学物質はDNAに損傷をおこし、突然変異をもたらすと、考えても良いのであろうか。

今回我々の研究において、DNA損傷をもたらすことがわかっているアセトフェノン(AF)と近紫外光(UVA)とを大腸菌に作用させるとumu遺伝子の誘発が明らかにあること、そしてこのAF+UVAによるumu遺伝子の誘発は、phr<sup>+</sup>株に比べてphr<sup>-</sup>株で特に大きく見られることがわかった。AF+UVAはピリミジンタマ-のうちチミン-チミンタマ-のTTのみをDNAに生成し、細胞に死をもたらすことは有名である(photo-dynamic action)。一方このTTのみを作る操作は突然変異をもたらさないことも従来から知られている。従って、umu遺伝子の誘発は必ずしも誘発突然変異を伴うとは考えられない。現在我々は、突然変異にはまずumu遺伝子が誘発されてのち、DNA上の損傷の部位の種類(TT以外)によって突然変異が確立するものと考えている。

## O-28

G<sub>0</sub>期ヒト末梢リンパ球liquid-holdingに於ける温度効果の検討：姉妹染色分体交換頻度を指標として

三浦邦彦、森本兼義（阪大医・環境）

G<sub>0</sub>期ヒト末梢リンパ球を液体保持(liquid-holding; LH)した際の、自然発生並びに薬剤誘発姉妹染色分体交換(Sister Chromatid Exchanges; SCEs)頻度に関しては従来にも、数種類の放射線或はDNA傷害性の薬剤を用いた結果が報告されている。これらの幾つかではG<sub>0</sub>期ヒト末梢リンパ球に於ける修復を反映して傷害量の減少が観察されているが、他方染色体構造異常を指標としてLHを行った際には、傷害量の増加が報告されている場合もあり、LHに於ける修復動態の解析に関しては更に詳細な検討が必要とされている。

筆者らは、既にG<sub>0</sub>期ヒト末梢リンパ球を薬剤処理した際に生成するSCE頻度に対しては処理温度が顕著な効果を及ぼすことを報告している。本報告ではこの知見を基に、G<sub>0</sub>期LHに於ける自然発生及びmitomycin-C(MMC)誘発SCE頻度に対する温度効果を、0-37°Cの温度幅にて検討を行ったので報告する。

## O-29 化学物質誘導染色体異常における核酸素の役割 (1)Topoisomerase II

○笠原義典、四宮順子、中井康晴、八木君枝、蒔田徳太郎（帝人生物医学研究所）

*in vitro*染色体異常試験では多くの代表的変異原物質は交換型異常を誘起する。交換型異常はDNA 2重鎖の切断と再結合という過程を経なければ生じないことから、この反応を触媒する酵素としてはTopoisomerase IIが考えられる。Topo IIの阻害剤であるNovobiocinは単独でもCHL細胞の10-20%に切断型異常を誘起したが、MMC、MNNGと共に処理した場合には、交換型異常を有意に減少させ切断型異常を増加させた。また、CHL細胞核酸素を0.35M NaClで抽出し、プラスマドpBR322を基質としたrelaxation反応、及びcatenation反応をアガロースゲル電気泳動法により解析した。その結果、高濃度のATP存在下、または特定濃度のNovobiocin存在下で、super-coiled DNAは relaxed formだけではなく linear DNAへと変換した。これらのことは、Novobiocinは Topo II活性を完全に阻害するばかりではなく、特定の条件下では再結合活性のみを阻害する場合があることを示唆している。従って、MMC、MNNGとNovobiocinを併用した場合の交換型異常の減少、切断型異常の増加はTopo II再結合活性の阻害効果によるためとも考えられ、化学物質により誘導される交換型異常はTopo IIにより生じる可能性を示唆している。

## O-30 ショウジョウバエの体細胞突然変異検出系を用いたウレタンの変異生成機構

○梁治子、野村大成（阪大 医）

ウレタンは哺乳動物で強い発癌性を示す。変異原性については、微生物では認められずショウジョウバエやマウスで変異原性を示す化合物である。ハエの二つの体細胞突然変異検出系と修復欠損株を用い、ウレタンの変異生成機構を調べた。

[材料及び方法] ハエの体細胞検出系として翅毛系、眼色系(w<sup>+</sup>系、w<sup>-</sup>系)を用いた。DNA修復欠損株として、mei9mei41(除去及び複製後修復の二重欠損変異)株を用いた。

[結果] 翅毛スポットテストでは、ウレタンは小シングル、大シングル及びふたごスポットを誘発する。しかも、mei9mei41株では、微量のウレタンで翅毛スポットは著増する。眼色スポットテストにはw<sup>-</sup>系に(w<sup>-</sup>)<sup>+</sup>株を、w<sup>+</sup>系にw<sup>+</sup>株を用いた。これらの株の1令幼虫を含む培地にウレタン水溶液0.25%、0.5%を0.5mlづつを適下することで幼虫を変異原処理する。(w<sup>-</sup>)<sup>+</sup>株では無処理、0.25%、0.5%にそれぞれ0.61%(1/822)2.3%(20/856)、3.4%(25/744)と変異の誘発が見られた。w<sup>+</sup>株については、同様のウレタン処理で変異の誘発は見られない。

[考察] X線は翅毛スポットを効率よく誘発し、mei9mei41株では変異は著増する。一方、X線はw<sup>-</sup>株で変異誘発を起しやすく、紫外線は、w<sup>+</sup>株で変異誘発を起しやすい。上記のウレタンの変異誘発様式から、ウレタンはX線型様式に似ているので変異の主因はDNA鎖切断と思われる。

## O-31

5-Fluorouracilのin vivo変異原性の発現に対するthymidine monophosphateの抑制効果

○中村 稔, 藤川 和男, 鮫島 顯二, 中島 由弥  
一ツ町 晋也(武田薬品 中央研究所)

5-FUは in vivo 系において染色体に対する顕著な毒性を示すが遺伝子突然変異は誘発しにくい(1986年本大会)。5-FUの変異原性のこのような特徴がチミジル酸飢餓と関係しているかどうかを調べるために本研究を企画した。

まず、ショウジョウバエの  $Rec^{-}$  変異体  $mei-41^{D5}$  が5-FUに対して高い致死感受性を示すこと(未発表)を利用して、この変異体の幼虫をいろいろなモル比の5-FUとTMPで同時処理し、5-FUのDNA毒性の発現に対するTMPの効果を調べた。その結果、5-FU:TMP=1:3.6 のモル比による処理では5-FUの毒性はほとんど発現しないことが明らかになった。この処理条件で翅毛スポットテストを実施したところ、TMPは5-FUの体細胞染色体組換え誘発作用を抑えた。そこで、妊娠13日目のマウスに同じモル比で同時処理(腹腔内投与)し、胎仔肝の赤芽球における小核出現頻度を、5-FU単独投与の場合と比較する実験を行った。この実験においても、TMPは5-FUの染色体毒性の発現を顕著に抑制した。5-FUはマウスやショウジョウバエのin vivo体細胞でも、イースト、バクテリア、哺乳動物培養細胞などの in vitro 系で報告されているように、nucleotide pool imbalance を誘起することにより変異原として作用すると思われる。

5-FU誘発胎仔小核のサイズにおよぼすTMPの効果についても言及する。

## O-32 ms 遺伝子の母性遺伝の可能性

○須藤鎮世、佐藤静治(伊藤ハム、中研)

MS/Aeマウスは Ae<sup>5</sup>chbacher により優性致死試験の途次、変異原高感受性な系統として樹立された。小核試験においては、1、自然発生頻度がやや高いこと、2、小核誘起剤の低用量では不明瞭であるが、中用量から高用量にかけて ddY, CD-1, BDF<sub>1</sub> マウスより高頻度に小核が誘起される傾向にあること、がわかっている (JEMS.MMS分科会, 1988)。今回その遺伝様式を調べるために、親系統である CD-1 マウス (C と略) と MS/Ae マウス (M と略) とを交配し、F<sub>1</sub> マウスに mitomycin C, 6-mercaptopurine, および colchicine を投与し、小核試験を行った。その結果、概略の傾向として、小核の出現頻度は雌雄ともに M/M の F<sub>1</sub> (M 雌 x M 雄の子、以下同じ) が高く、M/C の F<sub>1</sub> がそれと同等もしくは若干おとり、C/C の F<sub>1</sub> は最も低く、C/M の F<sub>1</sub> は C/C と同等もしくは若干高かった。すなわち、母親が M であれば小核の頻度が高く、母親が C であればその頻度は低い傾向がみられた。

このことは、MS/Ae の形質を支配する遺伝子(仮に ms と呼ぶ)は母性遺伝をするか、それと深い関係にあることを示している。

## O-33

N-エチル-N-ニトロソ尿素はマウス始原生殖細胞にも劣性突然変異を誘発する

○濵谷 徹<sup>1</sup>, 室田哲郎<sup>2</sup>, 堀谷尚古<sup>1</sup>, 原 巧<sup>1</sup>

<sup>1</sup>(財) 食品薬品安全センター・秦野研究所

<sup>2</sup>三菱化成(株)総合研究所安全性研究所

N-エチル-N-ニトロソ尿素(ENU)はこれまでにマウス胎仔に体細胞突然変異を誘発するとともに精巣の発達を抑制することが認められている。後者は経胎盤的に投与された ENU が始原生殖細胞(primitive germ cells, PGCs) にまで作用して、細胞死を誘発した結果であると考えられる。そこでマウスの PGCs に ENU によって突然変異が誘発されるかどうかを特定座位試験によって調べた。

雌雄の C3H 系マウスを交配し、妊娠10日に ENU を 30 あるいは 50 mg/kg 経胎盤投与し、出生後、雄を PW 系雌マウスと交配し、その F<sub>1</sub> の毛色から突然変異の有無を判定した。無処理群ではこれまでに 14597 匹について調べたが変異体は得られていない。30 mg/kg 群においてはこれまでに 4975 匹について調査したが、突然変異体は 3 例得られ、そのうちの 1 つはクラスターであった。50 mg/kg 群ではこれまでに調べた 2822 匹中で 15 例の突然変異体が得られ、このうちのほとんどはクラスターとして出現した。

ENU によるマウス PGCs における突然変異は単位用量で比較すると精細胞期での場合よりもかなり高く、またクラスター突然変異が多く出現した。PGCs は放射線による突然変異の誘発頻度が低い時期であり、生殖細胞における突然変異誘発が化学物質と放射線では異なる場合があることを示唆している。

## O-34

テレオシジンとフルボール

エステルとの構造相関

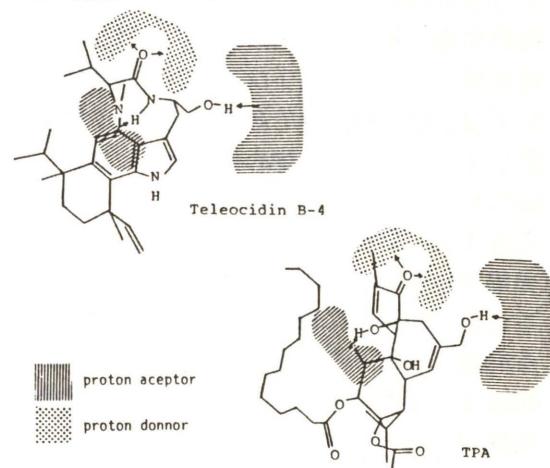
○首藤紘一<sup>1</sup>, 遠藤泰之<sup>1</sup>, 板井昭子<sup>1</sup>

藤木博太<sup>2</sup>

(1 東大薬 2 国立癌センター研)

強力な発癌プロモーターであるテレオシジンは同じく強い作用を持つフルボールエステル (TPA)、インゲノールエステル、あるいはアブリシアトキンと構造が大幅に異なる。これらの化合物は同一のレセプターに結合して活性を発揮すると考えられているが、構造上の対応関係は明瞭でない。

我々はテレオシジンとその関連化合物の構造と活性との研究および立体構造の解析から、発癌プロモーターに必要な構造因子を抽出し、テレオシジンと TPA との構造の対応を推定した。その結果、テレオシジンのアミド NH, 11-C=O および 9-CH<sub>2</sub>OH は、それぞれ、TPA の 4-OH, 3-C=O および 6-CH<sub>2</sub>OH と対応するとの結論がでた。



O-35

## 下痢性貝中毒関連物質の発癌プロモーション作用

○藤木博太,<sup>1</sup>菅沼雅美<sup>1</sup>, 村主浩子,<sup>1</sup>吉澤滋<sup>1</sup>  
高木寛治<sup>1</sup>, 宇田直人,<sup>1</sup>佐々壽浩<sup>1</sup>, 山田静之<sup>2</sup>  
安元健, 杉村隆(国立がんセ, 名大理  
凍北大農)

今までに見い出された新しいマウス皮膚発癌プロモーターは、興味あることに、海洋天然物が多い。日本やヨーロッパで生じる下痢性貝中毒の原因物質である okadaic acid(OA) 及び dinophysistoxin-1(DTX1) は、マウス耳の発赤を生じ、マウス皮膚のオルニチン脱炭酸酵素(ODC)を誘導した。更に、OA及び DTX1は、マウス皮膚発癌二段階実験に於いて TPA, teleocidin 及び aplysiatoxin と同様に、強力な発癌プロモーション活性を示すことを最近、私共は、見い出した。二枚貝には、OA, DTX1の他に、アシル化されたOA、例えば、7-O-palmitoyl OA及び pectenotoxin 2 も含まれている。これらの化合物が示すマウス耳の発赤及び ODC誘導の強さは、下痢性貝中毒の強さとも相関する。OA及び DTX1の消化管に対する発癌プロモーション活性については、現在検討中であるが、ラット腺胃に於いて、ODC 誘導が認められた。現在 palytoxin, OA 及び DTX1が、貝以外の海産物に含まれているとの報告もある。これらの発癌プロモーターは、渦鞭毛藻類の産物であることが明らかになるにつれ、食物連鎖による発癌プロモーターの伝播を、グローバルに検討する必要性が生じた。下痢性貝中毒と発癌プロモーション活性の実験結果を基に、その予防についても討論する。

## 示説

**P-1** 鉄ニトリロ三酢酸 (Fe<sup>3+</sup>-NTA)  
の非変異原性とプロモーター作用について

○中塚繁治<sup>1</sup>, 有元佐賀恵<sup>2</sup>, 難波正義<sup>1</sup> (1川崎  
医大 医, <sup>2</sup>岡山大 薬)

ニトリロ三酢酸 (NTA) は洗濯用洗剤のリン酸塩の代替品として使用されているキレート剤である。その鉄錯体の Fe<sup>3+</sup>-NTA は、ラット腹腔内への連続投与による腫瘍の発生や, *in vitro*での投与によるラット肝細胞の悪性形質転換などの作用を示すことが報告されている。この Fe<sup>3+</sup>-NTA の作用機序は活性酸素の関与が示唆されているもののいまだ明確にされていない。そこで、我々はこの物質の変異原性およびプロモーター作用を検討した。変異原性試験は、サルモネラ菌 (TA97, TA98, TA100, TA102, TA1535, TA1537, TA100 1,8-DNP<sub>6</sub>, TA100NR) を用い、プレインキュベーション法で行った。プロモーター作用は、6TG 耐性 V79 細胞を用いて, Fe<sup>3+</sup>-NTA の代謝共同抑制作用を調べた。その結果、サルモネラ菌での復帰突然変異はすべて陰性 (1.0-600 mg/プレート, S9-) であった。さらに活性酸素の関与を考慮して Fe<sup>3+</sup>-NTA と H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> との両者共存下でのサルモネラ菌 (TA102) の試験を行ったが、結果は陰性であった。一方、代謝共同抑制作用が認められた。しかし、この抑制作用は軽度で TPA の約 1/5 であった。これらの試験結果は、Fe<sup>3+</sup>-NTA の発癌作用が変異原性としてではなく、プロモーター性に由来していることを示している。

**P-2** N-ニトロサミンのショウジョウバエに対する変異原性の検出と活性修飾因子の検索

○塩谷晃子, 根岸友恵, 早津彦哉 (岡山大・薬)

強力な発がん物質として知られる N-ニトロサミンは、Ames test では強い変異原物質として検出されない。今回、発がん性との相関性が高いと言われているショウジョウバエの翅毛スポットテストを用いて、5種のニトロサミンの変異原性を検出し、また、ビタミンによる変異原性の抑制について調べた。

N-Nitrosodimethylamine (NDMA), N-nitrosodiethylamine (NDEA), N-nitrosopyrrolidine (NPYR), N-nitrosopiperidine (NPIP), N-nitrosomorpholine (NMOR) をそれぞれ培地に混ぜ込み、3令の幼虫に与え、成虫の翅の形態に現われる体細胞突然変異を観察した。その結果、表 1 に示すように、全てのニトロサミンに変異原性が検出された。中でも、NDMA は、Ames test では他のニトロサミンと差はみられないが、ショウジョウバエでは鋭敏に検出できることがわかった。

次に、Ames test ではニトロサミンの変異原性を抑えることが報告されているビタミン C を、NDMA とともに与えたところ、顕著な変異原性の抑制はみられなかった。他のビタミン類についても現在検討中である。

表 1.

Reagent	Number of wings	Spots per wing		
		Small single	Large single	Twin
NDMA 10 μmol	57	8.20	2.07	0.30
NDEA 10 μmol	103	0.93	0.14	0.03
NPYR 10 μmol	132	0.55	0.09	0.04
NPIP 10 μmol	94	1.33	0.25	0.16
NMOR 50 μmol	65	6.26	1.86	0.57
control	164	0.23	0.01	0.02

**P-3** 非変異原物質であるハルマン及びノルハルマンによるDNA修飾

○山下克美<sup>1,2</sup>，大垣比呂子<sup>1</sup>，若林敬二<sup>1</sup>，長尾美奈子<sup>1</sup>，杉村 隆<sup>1</sup>（<sup>1</sup>国立がんセンター研究所，<sup>2</sup>九大医系院）

$\beta$ -カルボリン化合物であるハルマンとノルハルマンは、加熱食品にかなり多量に存在する。これらはサルモネラ菌に対し co-mutagen であるがそれ自身は non-mutagen である。ハルマンおよびノルハルマンを、マウスに混餌連続投与を行い、各臓器のDNA修飾を<sup>32</sup>P-ポストラベル法により解析した。

0.1%のハルマンを1ヶ月投与したマウスの肝臓のDNAより、4種のスポットが認められ、そのうち3種は腎臓からも検出された。その全付加体レベルは、10<sup>7</sup>ntd当たり、肝臓で1.6個、腎臓で0.5個であった。

0.1%ノルハルマンの1ヶ月投与により、腎のDNAから6種のスポットが検出された。そのうち5種は、腺胃と大腸のDNAにも認められた。大腸、腎および腺胃の付加体はそれぞれ 10<sup>7</sup>ntd当たり 1.8、1.0 および 0.2 個であった。

ラットに対しても同様に、種々の臓器のDNAにおける修飾を検討中である。

ハルマンおよびノルハルマンの発がん性および毒性について検討する必要があると考える。

**P-4** F344ラットにおけるPhIPのDNA付加体の生成

○高山京子，山下克美，若林敬二，長尾美奈子，杉村 隆（国立がんセンター研究所・発がん）

変異原物質である 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) は、加熱食品中等に含まれている。しかし、がん原性については未だ明らかにされていない。そこで、*in vivo* における PhIP のDNA付加体の生成について検討した。

PhIP を 0.01%、0.02%、0.05% の各濃度で基礎飼料 (CE-2) に混入し、雄の F344 ラットに連続投与した。2週間および4週間投与後、DNA付加体の生成を<sup>32</sup>P-ポストラベル法により解析した。その結果、解析した全ての臓器（肝臓、腎臓、肺、胃、大腸、膀胱）のDNAに付加体の生成が認められた。各臓器から検出されたDNA付加体は3個の major スポットと数種類の minor スポットで、臓器特異性は認められなかった。DNA付加体のレベルは、MeIQx や IQ とは異なり、膀胱において最も高く、0.05% PhIP の4週間連続投与群では、10<sup>7</sup> 正常ヌクレオチド当たり約10個の付加体が検出された。これに対して、肝臓における修飾レベルは膀胱のそれに比べ1/10以下であった。また、これらの修飾レベルは、PhIP の濃度増加および投与期間に伴って上昇した。

**P-5** Heterocyclic amines 類に対する酵素誘導マウス肝細胞を用いたDNA修復能試験

○岩田仁、吉見直己、田中卓二、森良雄、森秀樹（岐阜大学医学部第一病理学教室）

我々はheterocyclic amine類に対する齧歯類の肝細胞/DNA修復能を検討し、変異原性及び発癌性を強く有する3-amino-1-methyl-5H-pyrido[4,3-b]indole (Trp-P-2) が不定期DNA合成 (UDS) を示さないことを報告した。今回、代謝酵素が Trp-P-2 を活性化させることから、酵素 (P-448H) を誘導させたマウス肝細胞を用いて、そのDNA修復能を調べた。

方法：雄雌C3Hマウスに 3-methylcholanthrene(15mg/kg)を4回腹腔内注射し、40時間後コラゲナーゼ灌流法にて肝細胞を採取した。20時間、<sup>3</sup>H-thymidineとともに4種の heterocyclic amines (3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole (Trp-P-1), Trp-P-2, 2-amino-6-methylimidazole (Glu-P-1), (2-aminodipyrido[1,2-a:3',2'-d]imidazole (Glu-P-2)) を添加培養し、オートラジオグラフでUDSを測定した。

結果：Trp-P-2を含め4種のheterocyclic aminesで陽性を示し、genotoxicityに代謝酵素 (P-448H)が重要な因子であることを示唆した。特にTrp-P-2は、正常肝細胞では、陰性であったのに対し、強いUDSレベルを認めた。

**P-6** Benz(a)anthracene 誘導体及びそのdiol体によって誘発される染色体異常

○伊藤義明<sup>1</sup>，前田盛<sup>2</sup>，杉山武敏<sup>2</sup>（<sup>1</sup>神戸市環保研，<sup>2</sup>神戸大・医・第2病理）

我々はすでにBenz(a)anthracene (BA) とそのメチル、エチル誘導体 8種類 (DMBA, EMBA, MEBA, 7MBA, 12MBA, 7EBA, 12EBA, DEBA) について、ラット骨髄細胞での染色体異常及びエームテストによる変異原性を調べ報告した。それによると、エームテストによる変異原性の強さは発癌性と相関性が認められなかったが、染色体異常はかなり良い相関性が認められた。しかし、7MBA及び12MBAは発癌性がかなり強いにもかかわらず、染色体異常をほとんど誘発しなかった。そこで今回、我々はDMBA-diol, 7MBA-diol, 12MBA-diol, BA-diol の4種類の diol 体によって誘発される染色体異常を調べたので報告する。DMBA-diol によって誘発される異常をもつ細胞の頻度は、親化合物である DMBA と同じ程度に高かった。しかし、multiple CA は DMBAほど高頻度に観察されなかった。7MBA-diol と 12MBA-diol は、親化合物である 7MBA と 12MBA に比べ、かなりの程度で染色体異常を誘発した。BA-diol は、BA と同様ほとんど染色体異常を誘発しなかった。即ち、染色体異常の誘発は、diol 体の方が親化合物より、親化合物の発癌性と良い相関が見られた。diol 体は、diol epoxide の前駆代謝産物であるので、これらの結果は BA 誘導体の ultimate form が diol epoxide であることを示唆している。この研究は、シカゴ大学の Dr. Harvey らとの共同研究である。

**P-7** ラット骨髓細胞による塩素代替殺菌剤の変異原性

○藤江喜美子<sup>1</sup>、青木豊明<sup>2</sup> (<sup>1</sup>大阪女子大、<sup>2</sup>大阪府大工)

塩素は水道水の殺菌剤として広く用いられている。しかし原水の水質汚濁の進行とともに塩素注入によって自然界由来のフミン酸などと反応して、トリハロメタン(THMs)を生成する。THMsは変異原性や発ガン性が疑われており、日米両国において100ppbで規制されている。従って代替殺菌剤の検討がなされており、モノクロラミン、二酸化塩素が有力視されている。

我々はラットの骨髓細胞を用いて塩素、モノクロラミン及び二酸化塩素の変異原性を検討した。

試料溶液の濃度は使用直前のそれぞれの極大吸収波長における吸光度により決定した。この溶液にpH6.8リン酸緩衝液を加えて、隨時希釈して用いた。

実験動物はLong-Evansラットの生後4-5週齢を用い、染色体切断を指標とした。

塩素、モノクロラミン及び二酸化塩素について用量-反応関係が得られ、塩素とモノクロラミンは20mmol/kgで、二酸化塩素は80mmol/kgで有意の結果を得た。

作用時間による反応の変動を検討した結果、塩素は6時間で、モノクロラミンと二酸化塩素は12時間でMax.となり、24時間でほぼ対照値に戻った。

**P-8** Polyploid誘発剤の小核試験

○大内田昭信、古川明美、吉田良一(大鵬薬品安全性研)

化学物質等によって誘発される染色体の異常は構造異常と数的異常とに分けられ、数的異常はさらに異数性(aneuploidy)と倍数性(polyplioidy)とに区別される。変異原性試験の1つである染色体異常試験では構造異常と数的異常(主としてpolyplioidy)を指標として実施している。染色体の構造異常の出現頻度と小核の出現頻度と間に相関があるため、小核試験はin vivoでの染色体異常の簡便な検出系として広く用いられている。しかしながら、polyplioidと小核の出現頻度との相関性については明らかではない。

そこで我々は特異的にpolyplioidを誘発することが知られている5種の化合物(ethyl vanillin, diethylstilbestrol(DES), p-nitrotoluene, noscapine, thiabendazole)について、小核試験(pilot試験)を実施した。オリーブオイルで懸濁した5種の化合物(3-5用量)を8週齢のBDF<sub>1</sub>マウス(雄、24.5~28.5g)の腹腔内に投与し、24, 48, 72時間後に小核標本を作製し、盲検法にて観察した。

今回、調べた5種の化合物における小核の出現頻度はいずれの用量および処理時間においても0~0.4%であり、小核出現のピークは認められなかった。現在、これらの化合物について処理時間を24時間とし、本試験を実施しており、その結果をも合わせて報告したい。

**P-9** Benzeneおよび代謝物の小核誘発に関する検討

○島田弘康、佐藤利之、服部千春、佐武左知子、伊東悟(第一製薬・中央研究所)

Benzeneの小核誘発作用には性差および投与経路差があり、またbenzeneはマウスおよびラットに対してmulti-organicな発癌作用や骨髓細胞に対する強い障害作用を持つことが報告されている。しかし、これらの作用にどの代謝物が関与しているかについては不明な点が多い。我々は、benzeneおよびその代謝物について小核誘発作用とDNA鎖切断作用の関係を検討し、benzeneの小核誘発およびDNA鎖切断作用はphenolおよびhydroquinoneがその主な原因物質であるが、それ以外の代謝物も関与している可能性があることを第14回の本大会で報告した。今回は代謝物として2,2'-biphenolおよびmuconic acidを加えて追加検討すると共に、マウス骨髓細胞を用いたアルカリ溶出試験での検討を行った。その結果、チャイニーズ・ハムスター細胞を用いた前回の検討では認められなかったDNA鎖切断作用が、hydroquinoneおよび2,2'-biphenolで認められた。一方、muconic acidは分裂後期試験で弱い分裂阻害作用が認められたものの小核誘発作用、染色体異常誘発作用およびDNA鎖切断作用は認められなかった。今回得られたこれらの成績は、前回の報告を支持するとともに、benzeneの毒性発現に関して骨髓細胞での特別な代謝系の関与があることを示唆しているものと考えられる。

**P-10** 妊娠期シガレット煙暴露によるマウス胎仔肝におけるSCE・小核誘発性

○輕部敏昭<sup>1</sup>、小田切陽一<sup>1</sup>、渡辺昌<sup>2</sup>、竹本和夫<sup>1</sup> (<sup>1</sup>埼玉医大、<sup>2</sup>国立ガンセンター)

【目的】妊娠期における母体の能動喫煙／受動喫煙の胎児に与える細胞遺伝学的影響をみるため、妊娠マウスへの喫煙負荷による胎仔肝でのSCEと小核誘発性について検討した。

【方法】動物はICR/Jcl、雌マウスを用いた。喫煙方法はHamburg II型人工喫煙装置を一部改変し、1日30本の紙巻タバコより発生させた主流煙と副流煙をCO濃度が1000-1300ppmになるように調整し、それぞれ吸入暴露した。慢性暴露群では、妊娠前4週より妊娠16日目まで暴露し、急性暴露群では、妊娠15、16両日のみ暴露した。両群とも最終暴露2時間後に屠殺、一腹あたり2匹の胎仔より肝を摘出し単離細胞とした。対照には非暴露母マウスの胎仔肝を用いた。SCEと小核試験はColeら(1981, 83)の方法を一部変更しておこなった。観察対象はSCEではマウス1匹あたり100個の中期分裂像、小核試験では1000個の多染性赤血球とした。

【結果】(1)SCE頻度：非暴露群：5.80±0.09/cell (Mean±SE)、主流煙慢性群：8.25±0.10、主流煙急性群：7.60±0.14、副流煙急性群：8.57±0.16、副流煙慢性群：検討中、(2)小核頻度：非暴露群：0.86±0.34(%)、主流煙慢性群：1.27±0.24、主流煙急性群：0.80±0.37、副流煙急性群：1.00±0.26。小核試験では対照に比べ有意な影響は検出されなかった。SCEではいずれの暴露群も対照に比べ統計学的に有意な( $p<0.01$ )上昇を認めた。

**P-11** マイコプラズマ除染剤の細胞毒性等について

○田中憲穂<sup>1</sup>、仙波まり<sup>1</sup>、阿部和浩<sup>3</sup>、坂本京子<sup>2</sup>、高島浩介<sup>2</sup>（<sup>1</sup>食薬安全センター・細胞生物部、<sup>2</sup>同・食品環境部、<sup>3</sup>三菱油化ビー・シー・エル）

細胞バンクでは、培養細胞株の品質管理の一つとして、マイコプラズマの汚染検査が厳しく行われ、いまや研究者間では、マイコプラズマの汚染のない細胞株を実験に供することが常識となってきている。汚染細胞株を非汚染細胞と置き換える場合、マイコプラズマの除染を行わなければならない。従来より除染剤として用いられていたテトラサイクリン、タイロシンなどの抗生物質に加え、最近、MC-110やBMサイクリン、チアムリンなど抗菌性の高い除染剤が市販されている。しかし、これらの薬剤は長期間あるいは、高濃度で処理すると、宿主細胞に対して毒性が現れる可能性があるため、除染には細胞毒性のない処理条件を選ぶ必要がある。そこで、これら薬剤の細胞毒性と変異原性を、CHL細胞を用いたコロニー形成、小核試験、染色体異常試験、およびエームス試験により検索した。使用した薬剤は、MC-110、BMサイクリン、チアムリンなど、12種類である。その結果、MC-110に、50%増殖阻止濃度以下で、小核誘発や染色体異常誘発能が認められ、エームス試験も陽性であった。他の薬剤にも低い頻度で小核を誘発するものがみられた。

**P-12**

調理食品の突然変異原性について [IX]  
焼肉の変異原性に及ぼす焼き油および  
たれの影響

○久岡祥子、村岡知子  
(山陽学園短大、食物栄養)

熟成肉類の加熱調理による変異原性には、肉の種類、調理方法、焼き油の種類により差が認められることをすでに報告している。これまでの研究結果で、調理した鶏肉の変異原活性が牛、豚肉に比べ高かったので、今回は鶏肉を用いて焼き油およびたれが焼肉の変異原活性に及ぼす影響について検討した。

活性物質の抽出には青錠を用い、活性測定はサルモネラ菌TA98(+S9)により行った。

二種の油（大豆油、菜種油）を混合して製造されるサラダ油によるくわ焼きの変異原活性はそれぞれ単独の油や他の油を用いた場合に比べ低く抑えられ、オリーブ油、ラードを用いたとき高い傾向にあった。そこで、二種の油を混合することの変異原性に対する効果等を検討したので報告する。

また、たれを用いるくわ焼き、生姜焼きの変異原活性がソテーに比べ高く、特に生姜焼きでは、生姜繊維には変異原物質が吸着するにもかかわらずくわ焼きよりも高い活性を示した。そこで、たれについて実験した結果、生姜繊維のみを加熱した場合には His<sup>+</sup>コロニー数は陽性を示さなかったが、醤油と共に加熱すると醤油の加熱による変異原性を増大させた。生姜汁のみの加熱でも変異原性がわずかにみられ、醤油+生姜汁ではそれぞれ単独加熱のときに比べ高くなかった。Cellulose Powderによっても加熱による醤油の変異原性が増大した。これらのことから、繊維は砂糖の抑制効果とは逆に加熱による醤油中の変異原物質の生成を促進するのではないかと推察される。食物繊維が変異原物質を吸着することは賀田らにより明らかにされているが、繊維が加熱調理の際に存在したときに示す作用について更に追求する必要があると思われる。

**P-13**  $\gamma$ 線照射グルコースの変異原性

○坂本京子、金指久美子、岩原繁雄（食品薬品安全センター、秦野研究所）

食品の放射線照射は食品の保存と、品質保持を目的としておこなわれるが、その実用化のために世界各国でさまざまな食品について、照射によってその安全性がそこなわれていないかどうか検討がおこなわれている。当研究所においても野菜、穀類、果物の照射物について、さまざまな系を用いて変異原性試験を実施してきたが、試験したすべての品目において照射による変異原性の誘発は認められておらず、また他の機関でおこなわれた他の品目についての試験においても特に問題は認められていない。

一方、グルコースを単独で $\gamma$ 線照射すると Salmonella に対して変異原性を示すことが Niemandらによって報告されているが、この変異原性は丸ごとの食品からは検出できないような微量の生成物による可能性が考えられる。しかしその試験法が標準的なAmesテストと異なるため、照射グルコースについて通常のブレインキュベーション法によるAmes テストと、Niemandらの方法の2法で追試をおこない、グルコースの変異原性の強さを比較した。その結果、Niemandらのおこなった3時間以上のブレインキュベーションを必要とする方法では、弱い変異原性を示したが、標準的なAmesテストでは陰性であった。さらに、照射線量との用量作用関係、照射後の保存温度や保存期間による変異原性の消長等についても検討をおこなったので、それらの結果をふまえてグルコースの照射による変異原性について述べる。

**P-14** 糖・たんぱく質縮合物の変異原性  
—グルコース・牛血清アルブミン  
縮合物について—

○木苗直秀<sup>1</sup>、山下みつ子<sup>1</sup>、小沢敬弘<sup>2</sup>、又木克昌<sup>2</sup>、富田 勲<sup>2</sup>（<sup>1</sup>静岡県立大 食品栄養科学、<sup>2</sup>静岡県立大 薬）

生体内において、還元糖はたんぱく質と反応して容易に縮合物を形成したのち、蛍光性の褐色色素や、高分子量の縮合物を生成することが明らかにされてきた。本反応は糖尿病を含む疾病や老化と関連することが指摘されている。しかし、本反応生成物の発がんとのかかわりについての報告は極めて少ない。

演者らはグルコースと牛血清アルブミンを中性のりん酸緩衝液 (pH 7.4) に溶解したモデル系を用いて 37°C で反応させた。経時的に反応液の一部を取り出し、反応速度を OD 420nm で、蛍光強度を Ex 370nm、Em 440nm で測定した。また、反応液を精製水で透析後、凍結乾燥したのち、Ames 試験を行った。その結果、グルコース量を増加させると縮合物の生成速度が増加し、反応時間の経過とともに、-S9 mix で S.typhimurium TA100 に対して復帰変異コロニー数が増加した。本反応系にアスコルビン酸を添加すると着色度や蛍光物質の生成速度が早まり、縮合物の変異原性がさらに上昇する傾向を示した。

**P-15** 秋田及び福岡で生産された漬物中の変異原物質の同定

○竹中重幸<sup>1</sup>、世良暢之<sup>1</sup>、廣畑一代<sup>2</sup>、  
廣畑富雄<sup>3</sup>、常盤 寛<sup>1</sup>(<sup>1</sup>福岡衛公セ、  
<sup>2</sup>久留米信愛女短、<sup>3</sup>九大医)

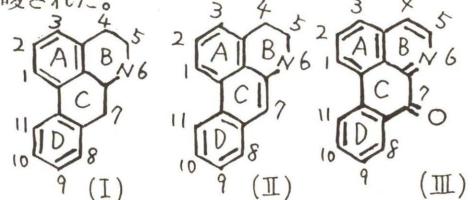
漬物中の変異原を検出同定する目的で、胃癌の高頻度及び低頻度発生地域である秋田及び福岡(久留米)産の漬物の変異原性を検討した。

漬物はクロホルム-メタノールで抽出した後、Ames testを行った。その結果、秋田産の漬物は福岡産の漬物に比べて変異原性が高く、採取した20検体中、最も高い変異原性を示した漬物のTA98株に対する変異原性は130 rev./mg (抽出物)であった。この漬物から抽出した試料をSephadex LH-20, HPLCにより精製すると、2つの主な活性物質を単離した。この2つの活性物質はそのUV吸収、GC及びHPTLCによる分析からケルセチンとラムネチンであることがわかった。漬物中のケルセチン及びラムネチン量は1g当たり、それぞれ、45, 4  $\mu$ gであった。この秋田産の漬物は薰製にした独特の製法で作られていたが、変異原物はこの薰製の過程で生成されたものではなく、漬物原料に含まれているフラボノイド化合物であろうと考える。

**P-16** Isoquinoline系alkaloidの変異原性について

○野坂富雄<sup>1</sup>、渡辺富士雄<sup>1</sup>、石野正蔵<sup>1</sup>、森本功<sup>1</sup>、国友順一<sup>2</sup>、石井永<sup>3</sup>、名取信策<sup>4</sup>(<sup>1</sup>埼玉衛研、<sup>2</sup>武庫川女子大薬、<sup>3</sup>千葉大薬、<sup>4</sup>明治薬大)

Isoquinoline系alkaloidの変異原性の構造相関、変異原性発現の機構解明を目的として、papaverine型(3種)、berberine型(3種)、morphine型(2種)、aporphine型(23種)、bisbenzylisoquinoline型(5種)等40余種の化合物の変異原性をAmes testを用いて検討した。今回試験した化合物では、bisbenzylisoquinoline, tetrahydroisoquinoline, hasubanan, morphine型の各化合物はいずれも変異原性を示さなかった。papaverine hydrochlorideとberberine hydrochlorideは変異原性を示したが、それらの還元体(tetrahydro-berberine), 還元誘導体(armepavine, laudanine)はいずれも変異原性を示さなかった。aporphine系alkaloid(I; aporphine, II; dehydroaporphine, III; oxoaporphine)ではA環の1, 2位にmethoxyl基(南天実のalkaloid, O-methyl domesticine)又はmethylenedioxy基(コマツのalkaloid, dicentrine)が置換しているとS9mixの添加で5 revertants/ $\mu$ g程度の活性を示した。一方aporphine系alkaloidでS9mixの添加で強い変異原性(100 revertants/ $\mu$ g程度)を示したアルkaloid, roemerine hydrochloride, カタマキのalkaloid, ushisunine等はいずれもD環の10, 11位に置換基がなく、この位置に置換基がくると変異原性は失なわれた。これらのことからaporphine系alkaloidの変異原性発現に10, 11位が関与している可能性が示唆された。



**P-17** 亜硝酸処理醤油中に生成している3-diazotyramineの変異原性を増強する醤油中の因子

○東元稔<sup>1,2</sup>、保野景典<sup>2</sup>、大西克成<sup>1</sup>(<sup>1</sup>徳島大医、<sup>2</sup>徳島文理大薬)

25種の醤油(最終濃度5%)を50 mM亜硝酸ナトリウム(pH 2)で37°C、1時間処理すると、サルモネラ菌TA100株に対して(-)S9で、34-834(平均368±228)His<sup>+</sup>復帰変異集落/ $\mu$ lを生じた。生じた変異原性は光に不安定であったので、実験は暗室で黄色灯下で行った。醤油中には既知の変異原前駆体であるtyramine(10-1,443、平均548±427 ng/ $\mu$ l)、と1-methyl-1,2,3,4-tetrahydro- $\beta$ -carboline-3-carboxylic acid(37-774、平均487±186 ng/ $\mu$ l)の他に、1-methyl-1,2,3,4-tetrahydro- $\beta$ -carboline(0-252、平均61.2±71.2 ng/ $\mu$ l)を検出した。しかし、これら3前駆体だけでは、亜硝酸処理醤油の変異原性の10.8-31.7(平均18.4±5.0)%しか説明できなかった。少量の醤油をHPLCで分画したり、また、活性炭処理によって3前駆体を除去した醤油を使用することによって、tyramineを亜硝酸処理した時に生じる3-diazotyramineの変異原性を約9倍増強する因子が醤油中に存在することを明らかにした。従って、3前駆体とこの増強因子で、亜硝酸処理醤油の全変異原性を説明することができた。この変異原性増強因子は、調べた10種の醤油全てに存在しており、亜硝酸処理の有無に関わらず変異原性はなく、熱(100°C、10分)にも光にも安定であった。

**P-18** 亜硝酸処理による変異原性ジアゾ化合物の生成

○笠川千晶、児玉由香、松島泰次郎(東大・医科研 痘生物)

チラミンやバメタンは酸性で亜硝酸処理によりジアゾ化合物を生じ、サルモネラTA98, TA100に変異原性を示すことが報告されている。

構造類似化合物の50 mM水溶液をpH 3で500 mM亜硝酸と1時間反応し、サルモネラTA98, TA100を用いて変異原性の発現を調べた。

薬物-NaNO<sub>2</sub>の変異原性

tyramine	+
4-hydroxyphenethyl alcohol	+
3-hydroxyphenethyl alcohol	+
2-hydroxyphenethyl alcohol	+
4-coumaric acid	+
4-propyl phenol	+
p-hydroxyphenyl pyruvate	+
tyrosine	+
dopamine	-
3-(4-hydroxyphenyl)propionic acid	-
3-(4-hydroxyphenyl)lactic acid	-
bamethan	+
synephrine	+
phenylephrine	+
epinephrine	-
octopamine	-
$\alpha$ -(methylaminomethyl)benzyl alcohol	-

バメタン型では側鎖のアミノ基が2級アミンになっていることが変異原性発現には必要であるが、チラミン型ではアミノ基であっても変異原性を発現する。m, p-dihydroxy体は変異原性を発現しない。

## P-19

煙製食品と亞硝酸の反応による直接型変異原の生成

○大島寛史<sup>1</sup>, M. FRIESEN, C. MALAVERILLE, I. BROUET, A. HAUTEFEUILLE, H. BARTSCH (国際癌研究機関)

煙製食品の摂取と胃癌の関連が疫学調査により示唆されている。この煙煙した食肉・魚介類を亞硝酸と反応させると、SOSクロモテストで検出しうる、代謝活性を必要としない直接型変異原の生成されることが見出された。市販の水溶性ヒッコリー煙液も同様の活性を示したので、これを用いて前駆物質およびニトロソ化後に生成される変異原の分離・同定をおこなった。前駆物質は酢酸エチルで中性条件下で抽出されるが、青錠には吸着されない。HPLCにより前駆物質を分離したところ、活性を示す分画から様々なフェノール化合物が同定された。そこで煙製食品に存在するフェノール化合物およびその関連物質を亞硝酸と反応させると、その約半数で直接型変異原が生成した。煙液のGC-MSによるフェノール化合物の定量とそれらのニトロソ化後の変異原性から、主としてフェノール、3-メトキシカテコール、バニリンおよびハイドロキノンがニトロソ化した煙液の変異原性に寄与していた。また、N-エチルナフチルアミンとのアゾ・カップリング反応物の TLC と GC-MS 分析により、ニトロソ化した煙液には、ジアゾキノンを含む様々なジアゾ化合物の存在することが示され、これらが煙製食品をニトロソ化した際に生じる変異原物質であると結論した。

## P-20

1-Nitrosoindole-3-acetonitrile による胃のDNA修飾

○若林敬二, 山下克美, 北川義徳, 鈴木美加, 長尾美奈子, 杉村隆 (国立がんセンター研)

野菜に含まれているindole-3-acetonitrile は酸性条件下で亞硝酸と反応し、直接変異原物質である1-nitrosoindole-3-acetonitrile (NIAN) を生成する。このニトロソ化合物の胃におけるDNA修飾を検討した。

7週令の雄F344ラットの胃内に、100 mg/kg 体重当量のNIANを0.5 mlのDMSOに溶解し、投与した。2時間後に屠殺し、前胃及び腺胃のDNA修飾を<sup>32</sup>P-ポストラベル法により調べた。前胃及び腺胃で、主要な3種の付加体を含め計6種のDNA付加体の生成を認めた。これら6種の付加体の総量は前胃、腺胃ともに、10<sup>7</sup>スクレオチド当たり1個であった。更に、主要な3種の付加体は NIANとDNAとのin vitroの反応でも生成した。

NIANのがん原性を明らかにするために、化合物をオリーブ油に溶かし、週1回ラット胃内に投与している。現在までの投与量は50 mg/kg×4回、25 mg/kg×23回、計 775 mg/kg であるが、既に解剖した1例で前胃にパピローマの発生を認めている。本実験は現在、継続中である。

## P-21

N-ニトロソピペリジンの近紫外光-リン酸-処理で生成する直接変異原について

○有元佐賀惠<sup>1</sup>, 島田浩美<sup>1</sup>, 吉田敦子<sup>2</sup>, 鵜川さと子<sup>2</sup>, 望月正隆<sup>2</sup>, 早津彦哉<sup>1</sup> ('岡山大・薬, <sup>2</sup>共立薬大)

【目的】アルキルニトロソアミンをリン酸存在化、近紫外光照射すると直接変異原性物質を生成することは既に報告した。今回我々はN-ニトロソピペリジン（以下、NP1P）について、生成する直接変異原性物質の分離・同定を行った。

【方法】NP1Pをリン酸緩衝液(pH 7.4)中、313nm 以上の近紫外光で室温3時間照射した。反応液を凍結乾燥後、乾燥メタノールで溶出し、蒸発乾固した。残さを水に溶かし、逆相系高速液体クロマトグラフィーにかけた。変異原活性のあるピークを分取し、リクロマトした。また、合成標品のホスホノオキシNP1Pとコクロマトを行った。

変異原性の検出は全てサルモネラ菌TA1535を用いた。

【結果】高速液クロのピークのうち、保持時間12分のピークにのみ活性があった。リクロマトによりシングルピークとなり、保持時間は合成標品のホスホノオキシNP1Pと一致した。さらにコクロマトにおいても一致することが分かった。

従って、NP1Pのリン酸存在下、近紫外光照射により得られた直接変異原はホスホノオキシNP1Pと考えられる。

## P-22

アルキルヒドラジンのサルモネラ菌 TA102 における変異原性

○松下洋久<sup>1</sup>, 山本雅子<sup>1</sup>, 望月正隆<sup>1</sup>, 遠藤治<sup>2</sup>, 松下秀鶴<sup>2</sup> ('<sup>1</sup>共立薬大, <sup>2</sup>国立公衆衛生院)

サルモネラ菌 TA100 と TA1535を用いた変異原性試験ではアルキルヒドラジンの発がん性と変異原性の強さには相関が見られなかった。今回は菌株としてサルモネラ菌 TA102 と TA100 を用い、前培養条件を検討しつつ、異なる構造のアルキルヒドラジンの変異原性とそれに及ぼすS9 mix の影響を調べた。

アルキルヒドラジンとしては1,2-ジアルキル体と1,1-ジアルキル体およびモノアルキル体（アルキル：メチル、エチル、プロピル、ブチル）12種を用い、前培養条件は TA102 に対しては7時間、TA100 に対しては10時間とし、両菌株に対する変異原性をS9 mix 存在下および非存在下で検討した。

S9 mix 非存在下ではサルモネラ菌 TA102において1,2-ジアルキル体とモノアルキル体の変異原性検出感度は TA100 よりも明確に上昇した。1,1-ジアルキル体は1,2-ジアルキル体およびモノアルキル体に比べ活性が弱かった。また両方の菌において S9 mix は1,2-ジアルキル体とモノアルキル体の変異原活性を低下させた。特に1,1-ジアルキル体では変異原活性を消失させた。従来の検出系では変異原性が弱く、発がん性との相関がなかった各種アルキルヒドラジンに比較的強い変異原活性をサルモネラ菌 TA102 を用いた試験系で検出しうることを見いたした。

## P-23

アルデヒド類、ジケトン類の変異原性

○加藤 典代<sup>1</sup>、荒木 明宏<sup>1</sup>、野崎 亘右<sup>1</sup>、  
松島 泰次郎<sup>2</sup> ( <sup>1</sup>日本バイオアッセイ  
微生物、<sup>2</sup>東大医研 癌生物)

アルデヒド類16化合物 (Formaldehyde, Acetaldehyde, Propionaldehyde, Phenylacetaldehyde, Cyclohexanecarboxaldehyde, n-Capronaldehyde, Acrolein, Crotonaldehyde, Methacrolein, trans-Cinnamaldehyde,  $\alpha$ -Methylcinnamaldehyde, Furfural, trans-2-Hexenylaldehyde, 2-Ethylcrotonaldehyde, Glyoxal, Pyruvic-aldehyde) とジケトン類3化合物 (Diacetyl, Acetylacetone, Acetylacetone) の変異原性をサルモネラTA100, 98, 104と大腸菌WP2uvrA/pKM101を用いてプレインキュベーション法37度20分で、代謝活性化の有無で調べた。アルデヒド類では、Formaldehyde, Methacrolein, Pyruvic-aldehyde, Glyoxal がそれぞれ4菌株に、Crotonaldehyde がTA98を除く3菌株に変異原性を示した。ジケトン類では、Diacetyl が4菌株に、Acetylacetone がTA104とWP2uvrA/pKM101に変異原性を示した。以上の試験結果から、WP2uvrA/pKM101がTA104と同様に、アルデヒド類及びジケトン類の変異原性の検出に優れていることがわかった。

## P-24

磁場の変異原性に与える影響 (第2報)

清水英佑, ○穂山雅子, 鈴木勇司, 林 和夫  
( 慶應医大・公衛 )

近年、リニアモーターカー、核磁気共鳴装置等の実用化に伴い、磁場の生体への影響が論じられている。我々は Ames test に用いるサルモネラ菌を用いて強磁場の突然変異に与える影響を検討し、昨年度本大会で報告した。今回更に、前回より低い磁場曝露の影響を種々の変異原性物質を用いて検討したので報告する。

### 【方法】

磁場発生装置は日本電子 ESR (JES-RE2X) を用いた。菌株は S. typhimurium TA98 を用いた。滅菌 NMR 試料管に菌液 0.1ml、ナーリン酸緩衝液 0.3ml、His・Bio溶液 0.2ml、被験物質 0.1ml の割合で磁場曝露直前に混合し、室温にて10分間曝露後、混合液 0.7ml に soft agar 2ml を加え plate に播き 37°C 48時間培養後に colony 数を計数した。

### 【結果及び考察】

今回は磁場強度として、1500 G(ガウス)、5000 G、10000 G の3段階を用いて3物質への影響を検討した。① AF-2: 0.025, 0.05, 0.1  $\mu$ g/plate 存在下での磁場曝露で、いずれの磁場強度でも変異原性抑制効果が認められた。② 1-Nitropyrene: 0.0125, 0.025, 0.05  $\mu$ g/plate 存在下で曝露したところ、AF-2 と同様にいずれも変異原性抑制効果が認められた。③ 5-Nitroacenaphthene: 12.5, 25, 50  $\mu$ g/plate 存在下で曝露したところ、3段階磁場強度のいずれでも変異原性促進効果が認められた。以上の結果から、磁場曝露で変異原性が抑制される物質と促進される物質のあることが観察された。この違いが物質の化学構造によるものか、他の因子によるものか、今後検討を要する。

## P-25

悪性腫瘍患者の  
尿中変異原物質の検索

○二宮ルリ子<sup>1</sup>、橋本英利<sup>2</sup>、小泉直子<sup>1</sup> ( <sup>1</sup>兵庫  
医大 公衆衛生、<sup>2</sup>神戸大 公衆衛生 )

ヒト排泄物中には摂取食品やこれらの代謝産物による種々の変異原物質が存在することが知られている。今回の研究は、悪性腫瘍の診断方法の1つとして、腫瘍マーカーとなりうる変異原物質が尿中に存在しないかを検索することが目的である。試料は、兵庫県内の某病院で癌と診断された患者9名の抗がん剤投与前の尿である。採取された100~300 mlの患者尿から、青綿法により多環芳香族化合物を吸着させ、抽出後 DMSO 1~3 mlに溶解したもの (1/100に濃縮) について 100°C, 3分滅菌した後、E-ムス・テトにより変異原性の検出を行なった。使用菌株にはTA-98, TA-100を用い、添加試料量はプレートあたり 0.05, 0.1, 0.2 ml とし、-S-9mix, +S-9mix の両系でカルインキュベーション法により行なった。対象患者の癌の原発巣は、胃3、肺2、胆嚢2、肝1、脳1であり、そのうち3名は他臓器への転移が認められた。これらの患者の復帰突然変異コニ-数は、いずれの患者の尿においても陰性対照群とほぼ同程度を示し、9例中6例ではプレートへの添加尿量が増加するとコニ-数が減少した。また、2例はコニ-の形成が全く認められなかった。コニ-の形状は正常人に比べて小さく、患者尿には TA-98 や TA-100 の形成を妨げる要因の存在することが伺われた。

## P-26

ブルーコットンとブルーレーヨン  
に吸着する化合物の分類: ブルーレーヨンの  
応用

○小原淑子<sup>1</sup>、有元佐賀恵<sup>1</sup>、早津聰子<sup>1</sup>、  
斎藤寛<sup>1</sup>、村岡知子<sup>2</sup>、早津彦哉<sup>1</sup> ( <sup>1</sup>岡山  
大・薬、<sup>2</sup>山陽学園短大・食物栄養 )

【目的】ブルーコットンは多環性物質を吸着し環境変異原研究に用いられている。今回、ブルーコットンに吸着する化合物の構造と吸着率の関係をより詳しく知るため約60種の化合物のブルーコットンへの吸着を調べた。また、その中の代表的なものについて最近開発したブルーレーヨンへの吸着率を調べ、コットンとレーヨンの比較をした。さらに、ブルーレーヨンを用い、トーストパン中の変異原物質を調べた。

【方法】0.9% NaCl 5 ml 中に 5~800 nmol の化合物を溶かし、ブルーコットン 50 mg  $\times$  2 で吸着を行った。ブルーレーヨンとの比較は、上記の溶液に、20 mg のブルーコットンまたはレーヨンを加え 1 回吸着した。トーストパンは、ブルーレーヨン抽出の後、ブルーレジンカラムにより分画し、HPLC 分析を行なった。

【結果】3環以上の化合物について特異的に吸着が起こった。例外的な物として、ケルセチンと PhIP があるが、これは2環と1環が直接結合しているため、3環を有する物と同様な平面構造を持つためと思われる。ブルーレーヨンへの吸着は、総じて、ブルーコットンよりも良い事が示された。トーストパン中の変異原物質については、前回の G1u-P-2 とは異なる物質が認められた。

**P-27** Blue rayon 法による河川水の変異原性評価

○阪本 博<sup>1</sup>、早津彦哉<sup>2</sup> (1岡山市水道局、  
2岡山大・薬)

【目的】河川水中の変異原物質の濃縮には、XADなどの樹脂による吸着濃縮法が一般的に行われている。しかしこの方法は、多量の河川水を採取し、実験室での吸着操作を行なわなければならぬなど、多くの労力を必要とする。我々はすでにblue cotton、blue rayonなどの吸着剤を単に水中に吊すだけで、川の流れを利用して、大量の水からの変異原物質の濃縮が可能なことを報告している。前大会では、岡山県のA川について、この方法による検討結果を報告した。今回、水質汚濁の著しい関西地方のY川について、blue rayon法による変異原性評価の有効性を確認した。

【方法】Blue rayon 0.5gを入れたネット6本を木製の板に取り付け、重りを付けて川の中に吊し、24時間後に回収した。溶出操作などは既報と同じである。得られた溶出試料についてAmes試験を行うとともに、シリカゲル薄層プレートによる展開分離を試みた。

【結果】Y川とその上流部の支流3河川から、6つの地点を選び調査を行った。結果は、すべての地点でTA98、+S9での有意な変異原活性が検出され、その変異原活性には dose responseが見られた。特に有機汚濁が著しいとされている支流河川のK川では、blue rayon 0.5gでTA98、+S9において7192、またその5分の1の量(0.1g当量)の試験では、TA98、+S9で3487、-S9で87、TA100、+S9で141という高い変異原活性が検出された。またK川試料を薄層プレート上に展開分離したところ、変異原活性の約70%が回収出来た。

**P-28** 有機ハロゲン化合物の変異原性

中村清一 (大阪府 公衛研)

上水道浄化過程における前塩素処理は有機汚染物質の分解に有効であるが、反面トリハロメタンをはじめ種々の有機ハロゲン化合物を生ずる。しかし、トリハロメタン等一部の物質を除いてこれら有機ハロゲン化合物の多くは未だ同定されておらず、従って、その毒性の有無も確認されていない。トリハロメタンがこれほど問題になったのは、たまたまガスクロマトグラフィーで容易に検出できるためであり、生体影響上問題になるのは、むしろ水中有机ハロゲン化合物の70-80%を占める不揮発性有机ハロゲン化合物であると考えられる。我々は、すでに、塩素処理により生成する有機ハロゲン化合物の分析を行い、いくつかの物質を同定している。今回は、水道水中の有機物を粒状活性炭で濃縮し、この吸着物質の変異原性とその変異原性の原因物質の究明を行った。また、その存在を確認したアセトニトリル類、アセトン類等の有機ハロゲン化合物の変異原性についても検討した。その結果、ヘキサン可溶の極性の低いフラクションが最も高い変異原性を示し、これらの変異原性には有機ハロゲン化合物が係わっていること、活性炭処理はトリハロメタンを除く有機ハロゲン化合物の除去に有効であることがわかった。

**P-29** 高感度Amesテスト(microsuspension法)による室内空気汚染評価—実験室内エアコンのフィルターに付着した粉塵の変異原性

○玉川勝美<sup>1</sup> 松本久美子<sup>1</sup> 高橋陽子<sup>1</sup>

関 敏彦<sup>1</sup> 角田 行<sup>1</sup> J.Lewtas<sup>2</sup>

(1.仙台市衛生試験所, 2.Health Effect Research Laboratory, U.S.EPA)

室内空気のおおよその汚染状況を知る目的でエアコンのフィルターに付着した粉塵について変異原性、B(a)P含有量の調査を行った。所内の6ヶ所(ガスクロ室、残留農薬分析室、金属分析室、原子吸光室、執務室、喫煙室)のエアコンに付着した粉塵についてN.Y.Kadoによる高感度変異原性試験(microsuspension法)により試験をおこなった。また、有元らの"アミノ酸含有グルコース寒天最少培地"を用いることにより試験期間の短縮化を図った。

変異原性は菌種、S9の有無で、各部屋ごとに異なっており主要な変異原が各部屋によってなっていることが示唆された。全体的に喫煙室の変異原性が最も強く、次いで職員執務室、原子吸光室、ガスクロ室の順であり、全般に火の使用頻度の高い部屋ほどタール含有率、B(a)P含有量、変異原性とも高い傾向が認められた。

また、microsuspension法は preincubation法と比べ大気浮遊粉塵抽出タールでは4~18倍、B(a)Pでは5倍、1-Nitropyreneでは64倍、2-Nitrofluoreneでは18倍の感度が得られ、室内粉塵のように試料量の少ない場合に有用であろうと考えられた。

**P-30** 大気中粒子状物質の変異原性(第2報)

○真鍋 芳樹、朝倉 正登、後藤 敦  
実成 文彦、中島 泰知(香川医科大学  
人間環境医学)

大気中粒子状物質の変異原性を2年間に亘り調査検討した。1986年4月から2年間香川医大屋上(地上約40m、海拔約80m)にてhigh-volume air samplerを用いて大気中粒子状物質を捕集し、benzene:ethanol(4:1)で超音波抽出し、溶媒溜去後、Ames法により変異原性を測定した。

大気1m<sup>3</sup>あたりの捕集粒子状物質は20~110μgであり、抽出物1mgあたりの変異原性は、TA98(-)S9で385~3330、TA98(+)S9で775~4050、TA100(-)S9で395~2210、TA100(+)S9で520~3560であった。大気1m<sup>3</sup>あたりの変異原性は、TA98(-)S9で4.8~52.9、TA98(+)S9で7.0~46.6、TA100(-)S9で1.7~46.3、TA100(+)S9で5.8~47.2であった。さらに、大気1m<sup>3</sup>あたりの benzo(a)pyrene, benzo(ghi)peryleneの量はそれぞれ0.13~1.67ng、0.24~2.49ngであった。

2年間の4, 7, 10, 1月の粗抽出物を中性・酸性・塩基性画分に分画してその変異原性を測定した。中性画分の変異原性は大きく変動していたが、酸性画分の変異原性はほぼ一定であった。また、塩基性画分の変異原性の変動も大きく、10月が最も高い変異原性を示した。すなわち、酸性画分に分画される変異原物質の組成は2年間通じてほぼ一定であるが、中性・塩基性画分に分画される変異原物質の組成は大きく変動していた。

今後、長期に亘る調査、および変異原物質の分析を行なう予定である。

**P-31** ビレンと二酸化窒素との光化学反応による2-ニトロビレンの生成について

○久松由東、松下秀鶴（国立公衆衛生院）

大気浮遊粒子中から高変異原性物質を含むニトロアレン系化合物が検出され、それらの生成についてディーゼル排出物や大気中の浮遊粒子表面における有機化合物とガス状窒素酸化物との反応による生成が検討されている。演者らは、ビレンと二酸化窒素との光化学反応で、1-ニトロビレン、1、3-、1、6-、1、8-ジニトロビレンが生成することを認めた。一方、大気浮遊粒子中から2-ニトロビレンが検出されたにもかかわらず、ディーゼル排出物中から検出されないことから、大気浮遊粒子表面での反応による生成が示唆されている。そこで、今回は、ビレンと二酸化窒素との反応による2-ニトロビレンの生成を主として光照射のもとで検討した。

光照射のもと、ビレンと二酸化窒素との反応生成物の変異原性は、二酸化硫黄の添加の有無にかかわらず、光無照射のそれと比べ著しく高くなつた。反応生成物を抽出し、反応生成物中のニトロビレンを還元し（NaSH）、蛍光体のアミノビレンに変換することにより、高速液体クロマトグラフィーの検出器に蛍光分光光度計を用いて分析した。固定相はNucleosil 17C18、移動相はMcIlvain's Buffer-Methanol (1:1, v/v, pH 5, 60°C) を、また励起/蛍光波長は375/450 nmを用いた。2-ニトロビレンの標準品（合成）との保持時間の比較から、反応生成物中に2-ニトロビレンが検出された。これらの結果から、光照射のもと、ビレンと二酸化窒素との反応により2-ニトロビレンの生成することが認められたが、生成条件等について検討中である。

**P-32** ニトロアレンの構造とその変異原性について: 2-および2,7-ニトロ置換フルオレン、フェナントレン、ビレン

○平山晃久、渡辺徹志、下村真司、藤岡靖弘、小笠茂、福井昭三（京都薬大）

【目的】我々はニトロビフェニルの構造とそれらの変異原活性との関係について検討を加えてきている。活性の強いビフェニル(Bp)は4-位にニトロ基を有しており、このニトロ基の導入により紫外外部吸収スペクトルのK-bandの長波長側へのshiftならびに吸収強度の増加が認められた。すなわちニトロ基の電子吸引性によりビフェニルの平面性が保たれインタークレート剤として高い変異原活性を発現することを明らかにしてきた。今回4-NO<sub>2</sub>-及び4,4'-diNO<sub>2</sub>-Bpを基本骨格とし、環拡大した2-及び2,7-ニトロ置換フルオレン(F1)、ジヒドロフェナントレン(DHPh)、フェナントレン(Ph)、テトラヒドロビレン(THPy)、ジヒドロビレン(DHPy)ならびにビレン(Py)について *Salmonella typhimurium*を用いた変異原性試験を行い、さらにこれら化合物の紫外外部吸収スペクトルを測定したところ興味深い知見が得られたので報告する。

【方法】変異原性試験は *Salmonella typhimurium* TA98、TA98NR及びTA98/1,8-DNP<sub>6</sub>を用いるAmes法で行った。紫外外部吸収スペクトルは試料をcyclohexaneに溶解して測定した。

【結果・考察】TA98に対する変異原活性の強度はモノニトロ体では2-NO<sub>2</sub>-THPy < 2-NO<sub>2</sub>-F1 < 2-NO<sub>2</sub>-DHPh < 9-NO<sub>2</sub>-Ph < 2-NO<sub>2</sub>-Ph < 2-NO<sub>2</sub>-DHPy < 1-NO<sub>2</sub>-Py < 2-NO<sub>2</sub>-Pyの順で、ジニトロ体は2,7-diNO<sub>2</sub>-DHPh < 2,7-diNO<sub>2</sub>-F1 < 2,7-diNO<sub>2</sub>-THPy < 2,7-diNO<sub>2</sub>-Ph < 2,7-diNO<sub>2</sub>-DHPy < 2,7-diNO<sub>2</sub>-Py < 1,3-diNO<sub>2</sub>-Pyの順であった。またニトロ基の増加による紫外外部吸収スペクトルにおけるK-bandのred shift及び吸収強度の増加がPy以外では認められ、活性の増強との相関性を有していた。しかし平面構造を有するPyのニトロ化物についてはその活性を予測するためには他の方法について検討する余地がある。

**P-33** Nitro-, Aminophenazine誘導体の変異原性について

○渡辺徹志、花崎有紀子、平山晃久、福井昭三（京都薬大）

演者らはこれまでにニトロビフェニルの構造と変異原活性との関係において、P-位ニトロ基の導入がビフェニルの平面性を安定にし変異原活性を上昇させること、さらにフェナントレン、フルオレン、ビレン等の縮合多環芳香族化合物においてもニトロ基導入により、同様に平面性の安定化と変異原活性の上昇が認められることが報告してきた。今回、自動車排出物中に検出され農薬としても使用されているフェナジンについてニトロ体及びアミノ体を合成し、その構造と変異原性との関係について検討を行なつた。モノ置換体2種(1-,2-)、ジ置換体5種(1,6-,1,7-,1,9-,2,7-,2,8-)について、ニトロ体ではS9mix非存在下 *S. typhimurium* TA98, TA98NRに対する活性を試験し、アミノ体についてはTA98を用いS9mix存在下及び非存在下で試験を行なつた。その結果、ニトロ体のうちTA98に対して1-,1,6-,1,9-体は陰性であり、陽性であった化合物の活性の強さは2,7->2,8->2->1,7-の順で、2,7-ジニトロ体は2,8-体の40倍以上の活性を有し(405 rev./3 ng)、TA98NRに対しても活性を示した。アミノ体はS9mix添加により2,7-,2,8-体に強い変異原活性が認められ、ニトロ体の場合と同様、2,7-ジアミノ体が他の置換体からかけはなれて強い活性を有していた(173 rev./3 ng)。また、2,7-ジアミノ体が染毛剤原料であるm-フェニレンジアミンの過酸化水素処理により生成することを確認し、その定量を試みた。

**P-34** 1-ニトロビレンオキシドのグルタチオン抱合体の腸管内の代謝

○西藤佳子、木内武美、大西克成（徳島大医）

1-ニトロビレン(1-NP)には酸化的代謝経路と還元的代謝経路とがある。1-NPの酸化的代謝活性体である1-NP oxidesは、1-NPをラットに投与した場合にグルタチオン(GSH)抱合体として胆汁中に排泄される。今回はそのGSH抱合体が腸管内でどの様に代謝されるのかについて検討した。

1-NP 4,5-oxideと9,10-oxideのGSH抱合体はラット肝サイトゾルを用いて調製し、これを基質として用いた。1-NP 4,5-oxide-GSH抱合体(4,5-GSH)をラット腸管内容物及び糞便の無細胞抽出物と磷酸緩衝液(pH 7.4)で37°Cに保温後、反応液をHPLCで分析した。その結果、経時的な4,5-GSHの減少がみられ、代謝産物A(保持時間12分)とB(17分)のピークが観察された。ラット糞便から分離した優勢嫌気性菌及び糞便培養菌液の無細胞抽出物にはこの4,5-GSHに対する代謝活性はほとんど検出されなかつた。しかし、糞便培養菌液の無細胞抽出物は4,5-GSHの代謝産物(A及びB)に対しては、分解活性を示した。このことは、1-NP oxide-GSH抱合体は腸管壁粘膜由来の酵素で分解された後、腸内細菌叢により代謝されることを示している。現在、代謝産物A及びBの構造決定、またどの菌が主として代謝産物A及びBに作用するのかについて検討中である。

**P-35** ベルオキシゾーム増殖剤 Ciprofibrate の長期投与によるラット肝DNA中の8-ヒドロキシデオキシグアノシンの生成

○葛西宏<sup>1</sup>、岡田有紀子<sup>1</sup>、西村謹<sup>1</sup>、  
M.S. Rao<sup>2</sup> J.K. Reddy<sup>2</sup> (1)国立がんセ・研、  
(2)Northwestern Univ., USA)

**[目的]** 種々のベルオキシゾーム増殖剤はマウスやラットに経口投与すると肝がんを発生させる。これらの化合物は他の多くの発がん物質と異なり直接DNA付加体を形成せず、また変異原性も示さない。これらの化合物の長期投与によりベルオキシゾームの増殖および過酸化水素の放出が観察されている。そこで、ベルオキシゾーム増殖剤の一種、Ciprofibrateのラットへの経口投与により、酸素ラジカルによるDNA損傷の一つである8-ヒドロキシデオキシグアノシン(8-OH-dG)がラット肝DNA中に生じるかどうかを検討した。

**[方法]** ラット肝より簡略化した Marmur 法によりDNAを抽出した。8-OH-dG の定量はDNAの酵素分解によりデオキシヌクレオシドとした後、電気化学検出器(EDC)を接続した高速液体クロマトグラフィー(HPLC)により行った。

**[結果]** 発がん試験と同様に低濃度の Ciprofibrate (0.025%) を含む飼料を長期にわたり (10カ月) 投与した群では顕著な8-OH-dGの増加が認められた (4.3 8-OH-dG / 10<sup>5</sup> dG)。しかし、急性試験 (250mg/kg, 1回投与, 24時間) では8-OH-dGの増加は見られなかった。以上の結果からベルオキシゾーム増殖剤による発がんには8-OH-dGなどの酸素ラジカルによるDNA損傷が関与している可能性が示された。

**P-36**

腎発癌剤によるラット腎の8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) 生成の検討

○佐井君江<sup>1</sup>、高木篤也<sup>1</sup>、梅村隆志<sup>1</sup>、  
黒川雄二<sup>1</sup>、葛西宏<sup>2</sup>、(1)国立衛試・毒性、  
(2)国立がんセンター研・生物)

最近、活性酸素種がDNAのguanine残基を修飾し、8-OHdGを生成することが明らかとなり、この8-OHdGの生成と発癌との密接な関連性が指摘されている。事実、酸化剤でありラット腎に発癌性を示す臭素酸カリウムは、腎の8-OHdGレベルを上昇させ、その発癌過程における活性酸素種の関与が示唆された。

現在、この他にも変異原性及び非変異原性を示す多数の腎発癌剤が知られているが、それらの発癌メカニズムについては、まだよく解明されていない。従って、これらの腎発癌剤について8-OHdGの生成が腎で見られるかどうかを検討した。

今回我々は、腎発癌剤のうち変異原性を示すDimethylnitrosamine、Ethylhydroxyethyl nitrosamine、Lead acetate及び、非変異原性のp-Dichlorobenzene、Chloroform、Bis-(2,3-dibromopropyl) phosphate、Tris-2-chloroethyl phosphate、Dioxane、Trisodium nitrilotriacetate、Fe-nitrilotriacetate Decalin、2,2,4-Trimethylpentaneをそれぞれラット (F344, 雄, 6週齢) に単回経口投与し、12、24及び48時間後に腎を摘出し、8-OHdGレベルを測定した。

その結果、p-Dichlorobenzene、Fe-nitrilotriacetate及び2,2,4-Trimethylpentaneの投与により、腎8-OHdGレベルの上昇傾向が認められたため、現在、これらについて更に濃度、投与期間などを変えて検討中である。

**P-37**

コーヒーによるDNA中の8-ヒドロキシグアノシンの生成

○塩谷まみ、若林敬二、杉村隆、長尾美奈子  
(国立がんセンター研・発がん)

DNAに酸素ラジカル発生系を作用させると、8-ヒドロキシグアノシンが生成する。酸素ラジカルを発生する過酸化水素、鉄、ポリフェノールはコーヒー中に含まれている。そこで、コーヒーがDNA中に8-ヒドロキシグアノシンを生成するか否かについて検討した。

0.01~0.5 mgのインスタントコーヒーと 0.5 mgの仔牛胸腺DNAを1mlの0.1 Mトリス塩酸緩衝液(pH 7.4)中、37°Cで2時間反応させた。その結果、8-ヒドロキシデオキシグアノシン(8-OH-dG)は、デオキシグアノシン(dG) 10<sup>4</sup> 個当たり 0.9~4.7 個生成することがわかった。なお、コントロールのDNAからは dG 10<sup>4</sup> 個当たり 0.4~0.6 個の 8-OH-dGが検出された。レギュラーコーヒーもインスタントコーヒーと同様に 8-OH-dGを生成することがわかった。しかし、コーヒーの生豆の抽出物には 8-OH-dGの生成活性は認められなかった。さらに、コーヒーによる 8-OH-dG の生成は、カタラーゼまたは EDTA の添加により抑制された。以上の結果より、コーヒーによるDNA中の 8-OH-dGの生成には、過酸化水素及び金属イオンが関与していることがわかった。

**P-38**

ジメチルアルシン酸投与ラットの肺におけるDNA鎖切断およびその誘発機構

○山中健三<sup>1</sup>、箱守健二<sup>1</sup>、染矢朗子<sup>1</sup>、長谷川明<sup>1</sup>、澤村良二<sup>1</sup>、岡田昌二<sup>2</sup> (1)日大薬、  
(2)静岡県大薬)

演者らはこれまで無機ヒ素化合物ならびにその代謝物であるメチルヒ素化合物の遺伝子傷害性について検討してきた。その結果、ジメチルアルシン酸(DMAA)を投与したラットおよびマウスの肺において、DNA鎖切断が誘発される現象を見出した(日本薬学会第108年会)。今回、このDNA鎖切断の詳細とその誘発機構に関する検討した。DMAA-Na(1950mg/kg)を投与したラットの12時間後の肺を摘出し、pH12.1のアルカリ溶出によるDNA単鎖切断と、pH12.6の溶出によるalkali-labile siteの測定を行ない比較した結果、DNA鎖切断のアルカリ依存性は認められなかった。一方、DMAAを投与したラットの呼気中に代謝物であるジメチルアルシンが排泄されたため、マウスの肺から単離した核にジメチルアルシンを暴露させたところ、DNA鎖切断が誘発されたが、このDNA鎖切断はcatalaseまたはsuperoxide dismutase存在下で減少し、さらに両酵素共存下ではコントロールレベルまで回復した。このことから、ジメチルアルシンにより誘発されるDNA鎖切断は、メチル化剤のように、DNA adductの修復に伴う一次的損傷によるものではなく、ジメチルアルシンと酸素の反応により生成した活性酸素により直接誘発されるものと考えられる。なお、ジメチルアルシンとDNAおよび核酸構成成分との反応生成物に関しても検討したので併せて報告する。

**P-39** 活性酸素発生系における染色体異常誘発性 VI. Menadione 抵抗性細胞の分離とその利用

○沢田 稔, 祖父尼俊雄, 石館 基 (国立衛試 変異原性)

哺乳類培養細胞に及ぼす活性酸素の細胞毒性及び変異原性を検討する手段として、活性酸素に対する防御酵素の産生能を人為的に高めた細胞を利用する考えられる。これまでに我々は、過酸化水素処理によってカタラーゼ活性の高まったチャイニーズハムスター CHL細胞を分離し、それを用いて種々の化学物質の染色体異常誘発性について検討した結果を報告した(本学会第14, 15回大会)。

今回は、肝細胞などでsuperoxide anion radical( $O_2^-$ )を产生することが知られている menadione (2-methyl-1,4-naphthoquinone)を用い、superoxide desmutase (SOD)活性の高い細胞を得ることを試みた。CHL細胞を濃度を少しづつ上げながら繰り返し menadione で処理した結果、致死作用に対する抵抗性が約2倍に高まった。細胞当たりのSOD活性を Oberley and Spitz(1984)の方法によって測定した結果、親細胞の約1.5~2倍の値が得られた。現在、この細胞を用いて活性酸素との関連が考えられている化合物の染色体異常誘発性について検討中である。

**P-40** 変異原性試験用菌濃度調節装置の試作

○後藤純雄<sup>1</sup>, 武田知明<sup>2</sup>, ○遠藤治<sup>1</sup>, 高木敬彦<sup>2</sup>, 村田元秀<sup>2</sup>, 松下秀鶴<sup>1</sup> (<sup>1</sup>国立公衆衛生院, <sup>2</sup>麻布大学)

(目的) 変異原性試験の再現性向上の一環として、試験に用いる菌株の培養液中の菌数と菌の増殖ステージを保持する装置の開発を行い、これを用いて良好な再現性を示す条件を調べた。

(方法) 被験菌株にはサルモネラ菌TA98を用い、変異原性試験は Ames法(プレート法)を行った。

(結果) 得られた結果の大要は次の通りである。

1. 半導体レーザー検出器付濁度計、電流コントローラー、菌培養槽及びペリスタルティックポンプ(3台)を組み合わせた装置を試作した。

2. 上記装置を用いて3段階の菌培養液の濁度コントロール(8時間)を試みた結果、濁度( $OD_{780nm}$ )の変動係数はそれぞれOD=1.2のとき0.17%、OD=0.8のとき1.75%、及びOD=0.5のとき2.23%となり、菌濁度を精度よくコントロールすることが可能であることが判った。

3. 濁度コントロール時に2時間ごとに菌液を抜き取り、これを用いて変異原物質(4NQO)に対する変異原性検出能を Ames法で調べた。その結果、OD一定時の変異原性の再現性は各増殖ステージとも良好であることを認めた。

4. 増殖ステージにおける変異原性を上記と同様に調べた結果、低い濁度菌(OD=0.5)を用いた場合は、高い濁度菌(OD=1.2)を用いた場合よりも変異原性が高いことを認めた。

**P-41** umuテストによる各種殺菌消毒剤及び代謝産物の遺伝毒性評価

○坂上吉一<sup>1</sup>, 山崎浩志<sup>1</sup>, 横山 浩<sup>1</sup>, 小瀬洋喜<sup>2</sup>, 佐藤孝彦<sup>2</sup> (<sup>1</sup>大阪府立公衛研、<sup>2</sup>岐阜薬科大学)

6種類の殺菌消毒剤及びその9種類の代謝産物の遺伝毒性を umuテストにより検討した。殺菌消毒剤グルタルアルデヒドは S-9 mix による代謝活性化の有無にかかわらず陽性を、また、アクリノールは S-9 mix (+) のとき陽性を示した。アルキルジアミノエチルグリシン、塩化ベンザルコニウム、グルコン酸クロルヘキシジン及び塩化メチルロザニリンはいずれも陰性であった。

塩化ベンザルコニウム、グルコン酸クロルヘキシジン及びグルタルアルデヒドの代謝産物の遺伝毒性の検討では、S-9 mix の有無にかかわらずピロガロールに陽性を認めた。アニリン、p-クロルアセトアニリド、p-クロルアニリン、p-クロルフェノール、グルタル酸、デカブチルジメチルアミン、ピロカテコール及びフェノールは、いずれも遺伝毒性陰性であった。

umuテストによる結果を液体rec-assay 及び Ames試験による結果と比較検討した。

umuテストは抗菌性物質の遺伝毒性の有無を評価するために、有益で、簡便な方法であると考えられる。

**P-42** umu試験の高感度・簡易化に関する研究  
—フローインジェクション方式の利用—

○後藤純雄<sup>1</sup>, 村上貴美恵<sup>2</sup>, 遠藤治<sup>1</sup>, 福岡正芳<sup>3</sup>, 片山敬<sup>2</sup>, 松下秀鶴<sup>1</sup> (<sup>1</sup>国立公衆衛生院, <sup>2</sup>東理大薬, <sup>3</sup>明電舎開発)

(目的) DNA損傷検出法の一つである umu 試験法を改良することにより、微量試料の変異原性を高感度、簡易かつ短時間に測定する手法を検討した。

(方法) umu 試験には、サルモネラ菌TA1535/pSK1002株を用いた。変異原性物質の作用で產生されたβ-ガラクトシダーゼの酵素反応・生成物の検出にはフローセル付蛍光光度計(島津RF500LC)及びルミノメータ(明電舎UPD200)を用いた。

(結果) 得られた結果の大要は次の通りである。

1. umu 試験の高感度化法(昨年発表)における酵素反応→反応生成物検出の操作の自動化にフローインジェクション-蛍光検出方式が適用しうることを認めた。

2. 無蛍光合成培地(ME)でも増殖する菌株を上記TA1535/pSK1002株の自然復帰コロニーから選別した。

3. 蛍光物質や蛍光阻害物質を被験変異原物質とした場合の上記手法の欠点を補うため、化学発光を利用した高感度 umu 試験法を開発した。

4. umu 試験に、フローインジェクション-化学発光検出方式が適用可能であることを認めた。

Micro-forward mutation法の改良法を用いた微量室内浮遊粒子の変異原性

○高木敬彦<sup>1</sup>、後藤純雄<sup>2</sup>、杉田佐和子<sup>1</sup>  
村田元秀<sup>1</sup>、松下秀鶴<sup>2</sup>、Joellen Lewtas<sup>3</sup>  
(<sup>1</sup>麻布大学、<sup>2</sup>国立公衆衛生院、<sup>3</sup>U.S.EPA)

目的) 室内空気の変異原性物質の量は各種発生源及びその使用頻度により、経時に変化することが考えられる。そのため個人の暴露量も勤務時間又は滞在時間により異なることが予想される。そこで本研究ではこれらの時間変動を把握するための手法検討の一環として微量室内空気試料の測定を可能にするため micro-forward mutation法を改良し、高感度化することを試みた。

方法) micro-forward mutation法の改良法の検出感度の検討には大気浮遊粉じん溶媒抽出物を用いて行い、併せて再現性の検討も行った。室内空気浮遊粒子の捕集には、47mmの石英繊維フィルターを用いて低流量エアサンプラー(20L/min)で2時間行った。抽出はベンゼン-エタノール(3:1v/v)用いた超音波抽出法で行った。変異原性試験はサルモネラ菌 TM677株を用いて行った。

結果) 得られた結果の大要は次の通りである  
1)改良法は、大気浮遊粉じん溶媒抽出物において micro-forward mutation法の1/10の試料量で十分変異原性測定が可能であることや再現性も良好なことが判った。2)室内空気の変異原性測定に必要な空気量は約3m<sup>3</sup>になった。

3) 1日(24時間)を2時間毎に12回に分けて室内及び室外空気を捕集して試験した結果、室内空気はS9mix無添加系で人間の活動時間帯において室外空気よりも有意に高いことが判った。

## Aneuploidigen検出系の開発

## I. ヒト×マウス雑種細胞による検出系

○山影康次<sup>1</sup>、岩田好史<sup>1</sup>、押村光雄<sup>2</sup>、田中憲穂<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup> 食薬安全セ・秦野研・細胞生物、<sup>2</sup> 神奈川ガンセ・研・細胞遺伝)

Aneuploid の生成は先天異常やガン発生の原因と成り得る事から、ガンの要因としての突然変異や染色体の構造異常だけでなく、精度の高い異数性誘発物質(aneuploidigen)検出系を開発することが急がれている。異数性の検出に関しては、染色体数に変異のある株細胞を用いる事は困難であり、現在のところ正常2倍体細胞を用いて全染色体数を計数するしか方法がない。

そこで、我々はヒト染色体を1本含むヒト×マウス雑種細胞を用いて、aneuploidigenの検出を試みた。

細胞は、押村らの開発した雑種細胞3株(1533, 3552, 7151)を用いた。ギムザ法およびキナクリン-ヘキスト2重染色法を用いて、雑種細胞中のヒト染色体の数を分析し、薬物によって誘発される染色体不分離の頻度を求めた。また、それと同時に倍数性細胞の頻度も分析した。

細胞分裂阻害剤であるコルセミドでこれらの雑種細胞を処理すると、3株ともその濃度に依存してヒト染色体を0ないし2本含む細胞の頻度が高まり、それと同じ様に倍数性細胞の頻度も増加した。3株のうち1533と7151は同様の傾向を示したが、3552では他の2株よりも低濃度域から不分離の頻度が増加し、しかも他より高い頻度を示した。

以上の結果から、雑種細胞を用いる本法は、異数性の原因となる染色体不分離を高感度に検出する簡便な試験系であることが示された。

## Aneuploidigen検出系の開発

## II. Aneuploid 誘発の指標について

○山影康次<sup>1</sup>、○岩田好史<sup>1</sup>、押村光雄<sup>2</sup>、田中憲穂

(<sup>1</sup> 食薬安全セ・秦野研・細胞生物、<sup>2</sup> 神奈川ガンセ・研・細胞遺伝)

近年、アスベスト、ベンゼン、DES(diethylstilbestrol)など、突然変異性がなく発ガン性を有する化学物質が見出されている。これらのいくつかはaneuploid を生じることから、aneuploid の生成は先天異常の誘発のみならず、発ガンやガン化の促進とも関連している可能性が指摘されている。

本研究では、今学会で報告した雑種細胞を用いる系で得られた結果と、aneuploid 誘発に間接的に関わっているとされている小核や変形多核の誘発、および倍数性細胞の形成について比較検討した。

細胞は、ヒト×マウス雑種細胞を主として用いた。薬剤は、細胞への作用がそれぞれ異なるものを用い、microtubules に影響するものとして、コルセミド、ボドフィロトキシン、ビンクリスチンなどcentrioles/centrosomes に作用する薬剤としてDESなどを細胞に処理した。

その結果、コルヒチンやビンクリスチン処理の場合、変形多核や倍数性細胞の出現は、aneuploid の頻度と同様に濃度依存的に増加した。これらの薬剤で生じた小核は、clastogen 処理の場合と異なって多核化した核が主であり、これらは、明らかに両者の生成機構の差によるものと考えられる。

## 蟻酸、酢酸、乳酸による染色体異常誘発とpHとの関連性について

○渡辺芳江、森田健、武田憲三、奥村和夫(日本グラクソ株式会社 東京研究所)

我々は昨年の本学会で酸性pHはCHO-K1細胞に染色体異常を誘発することを報告したが、今回、酸性化合物として蟻酸、酢酸、乳酸を選択し、その染色体異常誘発能とpHとの関連性について検討した。

培養液に10%FCSと16.7mM NaHCO<sub>3</sub>を含むF12(pH7.2~7.4)を用い、常法に従ってCHO-K1細胞の染色体試験を行なった。いずれの酸も代謝活性化の有無にかかわらず細胞のLD<sub>50</sub>値に近い、初期pH 約6.0(直接法:蟻酸12mM, 酢酸14mM, 乳酸14mM、代謝活性化法:蟻酸10mM, 酢酸10mM, 乳酸12mM)以下で染色体異常の誘発を認めた。直接法で認められた異常のタイプは主に切断型であり、HCl、H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>および酸性pH培養により誘発される異常と同様であった。

上記三種の酸をそれぞれ添加した後、NaOHを添加して培養液のpHを6.4以上として試験培養した場合、直接法、代謝活性化法ともに染色体異常の誘発は認められなかった。また、NaHCO<sub>3</sub>を增量(33.4mM)した培養液(pH 7.8)、あるいはHEPES緩衝剤を用いてpH8.5とした培養液を用いたところ、各酸は25mM以上の試験実施が可能になり、20mM以下で染色体異常の誘発は認められなかった。

以上より酸性化合物の染色体試験は培養液の酸性化により陽性の結果を得る危険性があるが、処理培養液の中和、あるいは変更等による再試験を実施することにより酸性pHによる影響を考察できると思われた。

## P-47

陽性対照物質の染色体異常誘発率に及ぼす培養液pHの影響

○森田健、渡辺芳江、武田憲三、奥村和夫  
(日本グラクソ株式会社 東京研究所)

近年、培養液のpHの変化が哺乳動物培養細胞に遺伝的影響を与えることが明らかになってきた。我々は昨年の本学会で酸性pHおよびS9-アルカリ混合物はCHO-K1細胞に染色体異常を誘発することを報告したが、今回、6種類の陽性対照物質(直接法; MMC, ENNG, 4NQO、代謝活性化法; B(a)P, DMN, DMBA)の異常誘発率に及ぼす培養液pHの影響を検討したので報告する。

各陽性対照をHCl 3~14mM (pH6.5~5.5)あるいはNaOH 4~16mM (pH9.1~10.8)とともにCHO-K1細胞に処理し、常法に従い染色体異常試験を実施した。ENNGはpH6.6以下で明らかな異常誘発率の増加を、pH9.1で著しい異常の減少を示し、pH9.7以上では異常の誘発を認めなかった。MMCおよび4NQOはHCl 12~14mM (pH5.7~5.5)との処理で、薬剤単独の約2~3倍の異常誘発率を示した。またMMCはNaOH 12mM (pH10.2)との処理で異常誘発率は約1/2となった。B(a)P, DMN およびDMBAはいずれもS9 mixの存在下のHCl 9~10mM (pH6.0~5.8)あるいはNaOH 16mM (pH10.8)との処理により異常誘発率を減少させた。

これらの結果はpHの変化が結果的に染色体異常誘発率に影響を及ぼすことを示しており、化合物の処理に際しては培養液のpHにも考慮を払う必要があると考えられる。

現在、各陽性対照の安定性におよぼす培養液pHの影響について検討中である。

## P-48

CHL および CHO細胞を用いる  
in vitro 染色体異常試験の比較: 米国NTP  
計画との協力研究

○祖父尼俊雄<sup>1</sup>、松岡厚子<sup>1</sup>、沢田稔<sup>1</sup>、  
石館基<sup>1</sup>、Michael D. Shelby<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>国立衛試 変異原性, <sup>2</sup>NIEHS, USA)

米国NTP(National Toxicology Program)では遺伝毒性試験の一環としてチャイニーズ・ハムスター CHO細胞を用いる染色体異常試験を行っている。昨年度の本学会において、NTPより供給された25種の検体について、CHL 細胞による染色体異常試験結果を報告した。今回は、NTPより入手したCHO 細胞による結果と我々の CHL細胞による結果について比較検討を行った。

検体: 9種のフェニレンジアミン類、6種のトリおよびテトラクロロフェノール類、4種のジフェニールアミン類など、計25種。

試験方法: CHL細胞では24および48時間処理の直接法と 6時間処理による代謝活性化法を行った。CHO細胞では10.5~20時間処理の直接法と 2時間処理による代謝活性化法を行った。

結果: CHL細胞では、合計25種の検体のうち14(56%)が S9mix 共存下あるいは非共存下で明かな陽性結果を示し、6(24%)は弱陽性、2(8%)は疑陽性、3(12%)は陰性であった。一方、CHO細胞では 8(32%)が陽性、4(16%)が弱陽性、1(4%)が疑陽性、12(48%)が陰性であった。いくつかの検体で、CHL と CHOでは細胞毒性および染色体異常誘発性を示す濃度が著しく異なっており、これら試験結果の差異について、使用細胞および試験プロトコールなどを含めて考察を加える。

## P-49

小核試験における投与経路の差

小核試験共同研究グループ(JEMS・MMS分科会)  
世話人代表 林 真(国立衛試 変異原性)

本共同研究グループは昨年の本学会で小核試験における腹腔内投与(ip)と経口投与(po)の差に関する予備的検討として各検体のLD<sub>50</sub>、投与量および標本作製時期についての検討結果を報告した。それらの結果をもとに2系統のマウス(MS/Ae, CD-1)を用い、Ara-C, 6-MP, B(a)P, DMBA, 2-AAF, Phenacetin, CYP, EMS, MMS, ENU, MMC, COL, VINC, KBrO<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub>, Benzene およびProcarbazine の17種の既知小核誘発物質について検討した。各検体を2機関が担当し、別々の系統のマウスを用いて10群(4匹/群、ip, po, 4用量群)の小核試験を実施した。

ほとんどの検体は両系統のマウスに対し両投与経路で小核を誘発した。ipの方がmg/kg単位では低用量で小核を誘発する傾向にあったが、用量をそれぞれの検体のLD<sub>50</sub>に対する比率に換算すると、この傾向は弱まった。総合的にみて、最適な投与量が設定されるならば、ipとpoで小核試験結果は定性的には大きな差が無いことが判明した。

共同研究参加機関【各機関の代表者、世話人】林 真(国立衛試)、田村博信(日本新薬)、原 巧(食薬センター)、牧田寿男(キッセイ薬品)、佐藤忠夫(中外製薬)、青儀巧(大塚製薬)、水橋福太郎(クミアイ化学)、西富保(三共化成安化研)、岸美智子(神奈川衛研)、杉山千代美(資生堂)、峰谷紀之(秋田大)、有賀文彦(アーリサー)、若田明裕(山之内製薬)、小島基義(環保健)、鈴木洋(大正製薬)、近藤耕治(塙野義製薬)、津吉俊(サンスター)、竹内正紀(吉富製薬)、須藤鎮世(伊藤ハム)、一ツ町晋也(武田薬品)、佐藤精一(日本たばこ)、池田保男(三共化成)、森田健(日本グラクソ)、浅野哲秀(日東電工)、大内田昭信(大鵬薬品)、近藤靖(田辺製薬)、中島圓(安評センター)、北川義徳(アントリー)、島田弘康(第一製薬)、神藤康弘(明薬薬業)、鈴木修三(実中研)、原正樹(住友化学)、井上達生(残農研)、安藤信明(ヨリ十字)。

## P-50

ラットの肝臓における不定期  
DNA合成(UDS)の迅速な検索法

○澤田繁樹<sup>1, 2)</sup>、降旗千恵<sup>1)</sup>、松島泰次郎<sup>1)</sup>  
(東大・医科研<sup>1)</sup>、エーザイ・安全研<sup>2)</sup>)

【目的】すでに、腺胃、大腸、前胃で報告した液体シンチレーションカウンターを用いる迅速な in vivo/in vitro UDS検索法を肝臓に適用したので報告する。

【方法】7~8週齢のF344雄ラットに、dimethylnitrosamine(DMN), 2-acetylaminofluorene(2AAF)およびCCl<sub>4</sub>を経口投与した。肝実質細胞をコラゲナーゼ灌流法で単離し、2時間培養を行い核DNAへの<sup>3</sup>Hチミジンの取り込みを、ヒドロキシウレア存在下(UDS)と非存在下(総DNA合成、TDS)とで調べた。肝実質細胞から核を単離し、DNAを抽出した後、取り込まれた<sup>3</sup>Hチミジンの放射能を液体シンチレーションカウンターで定量した。

【結果】DMNは体重1kg当り2.5~10mgの投与で、投与2時間後を頂点として1~16時間後にUDSを誘導した。2AAFは体重1kg当り12.5~50mgの投与で、投与4時間後を頂点として2~16時間後にUDSを誘導し、16時間後に7倍のTDSの促進を示した。

CCl<sub>4</sub>は投与24~48時間後にTDSの促進を示し、48時間後に23倍の促進を示したが、UDSは誘導しなかった。

【結論】本法により、肝癌原物質の臓器特異的なUDSおよびTDS活性を短期間で検索できた。

## P-51

*in vivo* DNA 修復試験による Aflatoxin 類の構造とハエでの活性力の強さの関係

○柴原俊一<sup>1</sup>, 梁治子<sup>2</sup>, 津志本元<sup>1</sup>, 野村大成<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>大塚製薬徳島研究所, <sup>2</sup>大阪大学医学部)

benzopyrene等の多環芳香族について、ショウジョウバエの*in vivo* DNA 修復試験による構造-活性の関係は、マウス-ラットでの構造-発癌性関係とよい相関を示した(藤川ら, 1987)。そこで、Aflatoxin 類についても上述の相関が認められるかどうかを Aflatoxin B1, B2 および G1 について調べた。*in vivo* DNA 修復試験の結果(表 1), B1, G1 は Rec<sup>-</sup> 雄を選択的に殺し、致死作用力は同程度であった。しかし、Rec<sup>-</sup>, Rec<sup>+</sup> 雄は、B1, G1 と同じ用量の B2 によって致死作用を受けなかった。各化合物のハエでの活性力を Rec<sup>-</sup> 雄選択的致死作用で表すと、ハエでの構造-活性相関は B1 = G1 > B2 となる。この関係は、ゲッ歯類での構造-発癌性関係(B1 > G1 > B2)をほぼ反映している。Aflatoxin M1 についても検討する。

表 1. *In vivo* DNA repair assay of aflatoxins.

化合物	用量 (pg/ml)	性比(Rec <sup>-</sup> or Rec <sup>+</sup> 雄 / Rec <sup>+</sup> 雌)	
		Rec <sup>-</sup> 雄	Rec <sup>+</sup> 雄
B1	1	0.06	1.19
G1	1	0.03	1.27
H <sub>2</sub> O	-	1.30	1.31
B2	1	1.45	1.15
DMSO (0.3%)	1.46	1.09	

## P-52

ショウジョウバエ翅毛スポットテストにおける組換えスポットの割合

○原 巧<sup>1</sup>, 石原幸治<sup>2</sup>, 堀谷尚古<sup>1</sup>, 濱谷 徹<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>食薬センター秦野研, <sup>2</sup>日産化学)

ショウジョウバエの翅毛スポットテストは体細胞に生じる染色体組換え、遺伝子突然変異、欠失、染色体不分離などを検出する *in vivo* の変異原性試験である。この試験で生じるスポットの成因を調べるために、染色体組換えを抑制した黄体色個体と非抑制の正常体色個体との比較を行い、6種の化合物によって生じるスポットのうち染色体組換えによるスポット(組換えスポット)の割合を調べた。

実験に用いた化合物は EMS, MMS, ENU, mitomycin C (MMC), bleomycin (BM), vinblastine (VB) であるが、これらをスポット生成パターンに関して 2 つのグループに分けることができた。

即ち、EMS, MMS, ENU および MMC の 4 化合物は、小スポット(細胞数 2 個以下)と大スポット(細胞数 3 個以上)の両者とも高頻度に誘発した。生じた大スポット中に占める組換えスポットの割合はこれら 4 種の化合物の間に大きな差はなく 80 ~ 90% であった。また、小スポットも含めた全部のスポットのうち 60% 以上が組換えスポットと推定された。

BM および VB の場合は多翅毛スポットのみを生じ、その大部分が小スポットであったことから、殆ど染色体組換えを誘発しないと考えられる。しかし、黄体色個体に生じたスポットの頻度は正常体色個体と比べて約 25% 低かった。この原因としては、黄体色個体の両物質に対する感受性の低さ、あるいは通常の交叉とは異なる機構による不等交叉などの可能性があり、今後の課題である。

## P-53

多芯型複合纖維によるたばこ主流煙中の変異原・がん原物質の吸着除去

○植田吉純, 若林敬二, 杉村 隆,  
長尾美奈子(国立がんセンター研・発がん)

たばこ主流煙中のタール及び変異原・がん原物質を減少させる方法としては、一般にアセテート及び活性炭等のフィルターチップが用いられている。新しいフィルター素材の開発を目的として、フィブリル化したポリスチレン・ポリブロビレンからなる多芯型複合纖維のたばこ主流煙中のタール及び変異原・がん原物質の除去効果について検討した。

東レ㈱で開発された多芯型複合纖維を市販たばこのフィルター部分に充填し、自動喫煙装置で喫煙した。その結果、わずか 35mg (φ 8mm × 6mm) の纖維の充填で、主流煙中のタール量は約 50% に減少した。これに伴い、S9 mix 存在下サルモネラ菌 TA98 に対して認められるタールの変異原性も半減した。また、がん原化合物である 2-amino- $\alpha$ -carboline 及び N'-nitrosonornicotine も約 50% に減少した。さらに揮発性ニトロソアミンである N-nitrosodimethylamine 及び N-nitroso-pyrrolidine も効率よく除去されることがわかった。

フィブリル化したポリスチレン・ポリブロビレン多芯型複合纖維は、たばこ主流煙中の変異原・がん原物質の除去に優れた機能を有していた。

## P-54

ペルオキシダーゼによるヘアダイ p-phenylene diamine の変異原性の不活化

○布柴達男、西岡 一(同志社大、生化研)

p-phenylene diamine(PPD)を H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(1-3M)で酸化することによって生成する安定した褐色色素は、ヘアダイとして使用してきた。1975年、Ames<sup>1)</sup>は、市販のヘアダイが、サルモネラ菌 TA98(+S9mix)で強い変異原性を示すことを報告し、それは生成した褐色色素、即ち PPD の trimer である Bandrowski base(BB) に由来すると推定した。また、我々<sup>2)</sup>は PPD を光照射(15W 蛍光灯、2hr)すると褐変し、TA98(+S9mix)で強い変異原性を示すことを見いだし、さらに化学分析により、それが BB であることを確認して、報告した。

一方、我々<sup>3)</sup>は、ヒトだ液が Trp-P-1 など、多くの変異原を不活化することを見いだしたが、その作用機構の一つは、ペルオキシダーゼ(P0)による酵素的酸化反応(P0酸化)によることを確認して、報告した。

今回、我々は、P0 が、BB の変異原性および PPD 光変異原性を著しく不活化することを見いだした。BB または、光照射により褐変した PPD を、P0 と 1mM-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> で 5 分間 37°C で処理し、TA98(+S9mix) を用いる Ames test にかけた。その結果、いずれも変異原性は著しく低下した。BB と光照射 PPD を P0 処理することによって得られた両物質を、UV-VIS 吸収で調べた結果、これらは同一の物質であると判定された。

Trp-P-1 の P0 による不活化は、NH<sub>2</sub> 基の azo-dimer 化によるとされている。BB には 4 つの NH<sub>2</sub> 基があり、この場合も同様の反応ではないかと推定している。

1) B.N.Ames et al. PNAS, 72, 2423 (1975)

2) K.Nishi et al. MR, 104, 347 (1982)

3) H.Nishioka et al. Antimut. & Anti-carcino. Mechanism(Plenum) (1986)

## 生体内薬物代謝系物質による変異原不活化

○高萩真彦、布柴達男、西岡 一(同志社大、生化研)

生体内では、薬物代謝系が働いて、様々な解毒が行われる。第1相反応では、チトクロムp-450や、その他の薬物酸化還元酵素によって、脱アミノ化、エポキシ化などが行われる。さらに第2相反応では、抱合系酵素により、排せつされ易い水溶性物質に変換される。

一方、変異原の人間への危険度を評価するためには、それらが生体内でいかに修飾されるかを知ることが重要である。我々もすでに、ヒト尿液や血清が多くの変異原を不活化すること、その機構の一つとして、ペルオキシダーゼが関与していることを見いだし、報告している。

今回、我々は、生体内解毒作用に注目し、その関連物質であるグルタチオン、グルクロン酸、チオネイン、含硫アミノ酸などを用い、各種変異原に対する修飾作用を調べた。試験系として、大腸菌WP2uvrA/pKM101およびサルモネラ菌TA98の復帰変異を用いた。化学変異原には、4NQO、AF-2、アルキル化剤、アミノ酸加熱分解物などを使用した。その結果、還元型含硫アミノ酸(システイン、ホモシステイン)や、エルゴチオネイン、グルタチオンなどが、MNNG、ENNG、MMSなどのアルキル化剤の変異原性を、著しく不活化することを見いだした。また、酸化型グルタチオン(GS-SG)や、含硫アミノ酸のSH基がすでにメチル化やエチル化されている化合物は、アルキル化剤を不活化しなかった。このことは、SH基が不活化の作用部位であることを示唆している。

SH基の関与する不活化は、非酵素下で速やかに進行することから、これらの物質は生体内におけるアルキル化剤解毒の重要な因子の一つであると推察される。

## Antimutative Effects of the Crude Seed Extract of Euphorbia Longana against B(a)P and DEN in S. Typhimurium TA98 and TA100

○洪清霖<sup>1</sup>、陳瓊芳<sup>2</sup>、蘇哲民<sup>2</sup>、董一致<sup>2</sup>(台北醫學院、公衛1、生化2)  
清水英佑(慈惠醫大、公衛)

Several naturally occurring antimutagens of small molecular wt. from the plant extracts have been screened, including Longan Seeds since 1984. Recently, a survey work for lectin contents of native seed plants affluent in Taiwan area have been just carried out in our laboratory, point to the clinical value of cancer therapy by the lectins. We prepared at hand some crude extracts of Longan by extraction with 5% acetic acid solution, then through neutralized and filtered. It was determined that this extract is composed of carbohydrate, protein and uronic acid. Such a mixed extract is really rather a large complex moiety than a small molecular wt single component indicated above. The purpose of this study is to observe whether it could also act as a modulator and induce some antimutative effects?

The *Salmonella*/microsomal bioactivation method was applied and modified by supplementation of the extract on the test system against two well known carcinogens---B(a)P and DEN.

Antimutagenic activities of this crude extract was clearly found with rather a dose response effect. The doses at 50% level of antimutation was also approximately estimated. Some sensitivities against the different carcinogens for both tester strains were discussed here. However it is necessary to continue our study to clarify the mechanism of action.

## 香辛料の変異原性修飾効果

平山晃久、○小川俊次郎、雲 聰、  
山田高司、渡辺徹志、福井昭三(京都薬大)

【目的】香辛料は古来より食品の食味を増す他、その抗酸化効果や殺菌効果から畜、魚介肉製品の保存の目的に用いられている。今回、香辛料の他の効果として、種々の変異原性化合物に対する変異原性修飾効果について検討し、若干の知見を得たので報告する。

【方法】市販の香辛料14種(all spice, oregano, cardamom, clove, sansho, cinnamon, sage, thyme, nutmeg, black pepper, white pepper, red pepper, laurel, 及び rosemary)のメタノールエキスを変異原性化合物と混合投与した。変異原性試験は、*Salmonella typhimurium* TA98及びTA100を用い、+S9(10% S9含有)又は-S9でpreincubation法により行った。

【結果・考察】エキス100μg/plateを用いたとき、香辛料自身に変異原性は認められなかつた。エキス共存下において、B(a)Pの変異原性には明確な変化は認められなかつた。AAFでは9種の、4NQOでは6種の、MNNGでは10種の香辛料により変異原性が各々1.6~6.3、1.6~2.4及び1.7~2.9倍に増強された。一方、アミノ酸加熱分解物である Trp-P-1, Trp-P-2, Glu-P-1, Glu-P-2 及び IQ に対してはいずれの香辛料も抑制効果を示し、特に all spice, clove 及び sage は変異原性を0.1~0.5倍に減少させた。All spiceについては、抑制活性成分は主精油成分である eugenol であることを明らかにした。又、eugenol は S9 mix による代謝系に作用することが示唆された。

## 野菜の栽培条件と抗変異原性

○江幡淳子、井上明子(阪大、生活科学)

【目的】野菜中に変異原抑制作用のあることはよく知られている。我々がこれまで行った検索の過程で、野菜の収穫時期や、生育期間、収穫部位、品種、貯蔵法などが抑制作用に影響のあることが認められた。代表的な野菜として、コ"ボウ"、ナス、カリ、キャベツ、ホーリンジウについて、これらの点を明らかにした。

【方法】野菜試料は奈良県農業試験場高原分場の畑土壤で露地栽培された。採取後ホモジエナイズし、被検試料とした。抗変異原性の測定は、AF2に被検試料を作用させた後、*Salmonella typhimurium* SD100株による変異原活性を測定し、AF2のみの変異原活性との差から、被検試料による変異原抑制率を算出した。

【結果】収穫時期: キャベツの抑制率は、秋収穫の方が夏収穫より外葉、内葉共に高く、部位別に比較すると何れも外葉が内葉より高かった。ホーリンジウは、夏収穫、秋収穫及び冬収穫の順に高かった。ナスは、収穫時期が7月から10月の間では9月のものが最も高かった。

収穫部位: カリでは、茎に対して個々の果実の実った位置(着果位置)が相対的に低い位置から高い位置に行くほど高い値を示した。

生育期間: コ"ボウ"について、生育期間が長くなるほど抑制率は増加した。

品種: コ"ボウ"、ホーリンジウ、カリについて各々品種が異なると、同一条件で栽培されても各品種により固有の抑制率を示した。貯蔵: 100日間、10°Cの冷暗所で、湿ったおがくず内に貯蔵したコ"ボウ"は貯蔵開始時のものに比べると、抑制率が低下した。

## P-59

ヘテロサイクリックアミンのDNA傷害作用に対するクロロフィリンの効果。—ショウジョウバエ修復能欠損株を用いて—

○根岸友恵、早津彦哉（岡山大・薬）

クロロフィル及びその発色部分であるクロロフィリンが、ショウジョウバエ翅毛スポットテストにおいて、Trp-P-1, Trp-P-2の変異原性を抑えることは、既に報告している。今回、藤川らにより開発された、簡便にgenotoxicityを検出することができる、組換え能欠損二重変異株(me-9<sup>a</sup>, me-41<sup>D5</sup>)を用いて、各種ヘテロサイクリックアミンのDNA傷害作用に対するクロロフィリンの効果を検討した。用いたショウジョウバエは、雄のみDNA傷害修復能を欠損しているので、DNAに修復可能な傷害がおこると、雄/雌の性比が小さくなってくる。Trp-P-1, Trp-P-2, Glob-P-1, Glu-P-2 5μmol/bottleで3令幼虫を処理すると、成虫になる各々の性比は、0.01, 0.01, 0.32, 0.02となり、DNA傷害作用が観察された。この時200mgのクロロフィリンを共存させると、この値がそれぞれ0.38, 0.34, 0.14, 0.06となり、Glob-P-1を除いては、傷害作用を抑える傾向となった。Trp-P-1, Trp-P-2については、かなり顕著な抑制効果があり、変異原性試験の結果とも一致している。

クロロフィリンは、Trp化合物と吸着することを、我々の研究室で見出している。この吸着の程度と、DNA傷害作用に対する効果、さらに変異原性に対する作用を調べ、これらの間に相関性があるかどうか検討しつつある。さらに、クロロフィリンの効果の機構について考察を加えようとしている。

## P-60

Cisplatinがヒト末梢リンパ球に誘発するSCEと染色体異常およびsodium thiosulfateの影響

○大江武<sup>1</sup>, 津田昌一郎<sup>2</sup>, 稲沢謙治<sup>1</sup>, 谷脇雅史<sup>2</sup>, 菊田精昭<sup>1</sup>, 三沢信一<sup>2</sup>, 阿部達生<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>京都府立医大・衛生, <sup>2</sup>同・三内)

白金化合物であるCisplatin(CDDP)は卵巣癌、睾丸腫瘍、肺癌をはじめとする悪性腫瘍に有効な制癌剤として広く用いられている。注意すべき副作用として腎毒性があるが、この副作用軽減のために、臨床的にはsodium thiosulfate(STS)によるrescueが行われている。今回、CDDPの遺伝毒性を、SCEと染色体異常誘発の面より検討し、STSの影響も併せて調べた。

【材料・方法】ヒト末梢リンパ球を15%FCS加 RPMI1640培地でPHA添加のもとに37°Cで培養した。1)終濃度10<sup>-11</sup>~4×10<sup>-6</sup>MのCDDPを培養開始時に加え、BrdU(終濃度5μg/ml)は培養開始後24時間目に加えた。2)STSは、臨床的に使用される濃度を考慮して添加した。3)染色体標本は48及び72時間後に通常の方法で作成し、Giemsa染色、FPG染色を行なった。それぞれにつき分裂指数(MI)を求め、SCE及び染色体異常を分析した。【結果・まとめ】1)CDDPの分裂指数は2×10<sup>-6</sup>Mで急速に低下した(MI:0.03)。SCEは10<sup>-6</sup>Mの濃度で26.2±6.84となり、control(5.67±2.08)に比し有意に上昇した。10<sup>-6</sup>Mでは、約2個/cellの染色分体型および染色体型のgap及びbreakが観察された。2)STS単独ではSCE頻度の上昇および染色体異常誘発はみられなかった。さらに、10<sup>-5</sup>MのSTSをCDDPと同時に処理するとSCE頻度は低下した。

## P-61

マイトマイシンC誘発姉妹染色分体交換の免疫賦活多糖類クレスチン、レンチナンによる抑制

○長谷川潤二<sup>1,2</sup>, 細川真澄男<sup>1</sup>, 岡田 太小林 博<sup>1</sup> (<sup>1</sup>北大医・癌研・病理, <sup>2</sup>北大環研・環境医)

【目的】抗癌剤は細胞障害性を示すとともに宿主正常細胞に突然変異をおこし、これが二次癌の発生につながるおそれがある。そこで我々は抗癌剤マイトマイシンC(MMC)によって誘発される姉妹染色分体交換(SCE)の出現頻度が臨床で比較的頻用される免疫賦活剤クレスチン、レンチナンによってどのような影響をうけるかを検索した。

【材料・方法】C57BL/6マウス背部皮下にBrdUタブレットを植え込み、1時間後MMCを尾静脈内に、クレスチンおよびレンチナンを腹腔内に投与した。21時間後、マウスにコルヒチン(4mg/kg)を投与して3時間後に骨髄細胞の染色体標本を作製した。その後、FPG染色し、顕微鏡下で各個体ごと25細胞以上観察し、細胞1ヶあたりのSCE出現頻度を統計的に比較した。

【結果】骨髄細胞のSCE出現頻度(SCEs/cell)はMMC 2mg/kg投与群で18.03±0.75と無処置群(3.65±0.28)に比し有意に( $P<0.01$ )上昇した。しかしながら、MMCとクレスチン300mg/kgの同時併用で11.76±0.48、レンチナンの同時併用で14.03±0.48となりSCE出現頻度はMMC単独投与群に比し有意に減少した( $P<0.02$ および $P<0.05$ )。

【結語】以上の事実より、MMC投与によって誘発されるSCEの増加が免疫賦活多糖類クレスチン、レンチナンの同時投与によってそれぞれ抑制されることが明らかとなった。

## P-62

マウス骨髄染色体異常誘発に対するタンニン酸の抑制作用

○松元郷六、佐々木有、太田敏博、白須泰彦（残留農薬研究所）

タンニン酸の抗突然変異作用が、微生物を用いた研究により既に示されている(Shimoi et al., 1985)。また、昨年の本学会において、タンニン酸のin vitroにおけるSCE、染色体異常誘発の抑制作用を報告した(Sasaki et al., in press)。今回、タンニン酸の染色体異常抑制作用をin vivoにおいて検討した結果を報告する。

BDF1雄マウスにMMC(腹腔内投与)とタンニン酸(経口投与)を投与し、MMC投与24時間後に標本を作製した。MMCとタンニン酸を同時に投与したところ、タンニン酸を用量100mg/kg以上で投与した群において染色体異常頻度の有意な減少が認められた。タンニン酸の染色体異常抑制作用は、MMC投与の6時間前に投与した時に最も顕著であった。以上の結果より、タンニン酸はin vitroのみならずin vivoにおいても染色体異常の誘発を抑制する作用があることが確認された。

Shimoi et al., (1985) Mutation. Res., 149, 17-23.

Sasaki et al., (1988) Agric., Biol., Chem., in press.

## P-63

発ガンプロモーターにより誘導されるマクロファージNBT還元能に対するメラノイジンの抑制効果

○冀 瑞林<sup>1</sup>、篠原和毅<sup>2</sup>、野中美智子<sup>1</sup>、村上浩紀<sup>1</sup>、大村浩久<sup>1</sup>(<sup>1</sup>九州大学食糧化学、<sup>2</sup>農水省食総研)

アミノカルボニル反応の最終生成物であるメラノイジンは抗酸化性、抗変異原性、腫瘍抑制作用などの活性を持つことが報告されており、生体内で重要な役割を演じることが期待される。

本研究では、二種のアミノ酸(Gly, Glu)と糖(Xyl, Xyl)との反応から得たメラノイジンの発ガンプロモーターにより誘導されるマクロファージNBT(nitroblue-tetrazolium)還元能に対する抑制効果を検討した。即ち、マウス腹腔から回収したマクロファージにPMA(phorbol myristate acetate)とメラノイジンを同時に添加し、マクロファージのNBT還元能を測定した。

その結果、PMAによってマクロファージのNBT還元能は高められるが、Xyl-Gly, Xyl-Glu系からのメラノイジンで処理した場合NBT還元能の低下が観察された。また、Glc系から得たメラノイジンには低下作用は見られなかった。

## P-64

抗腺胃発癌プロモーターの検索

○降旗千恵、松島泰次郎(東大医科研 痘生物)

〔目的〕腺胃発癌プロモーター、カテコール、ホルムアルデヒド、タウロコール酸Na、グリオキザール、 $K_2S_2O_5$ 、NaClをラットに経口投与すると、16-24時間後を頂点として一過性に胃幽門腺部粘膜の増殖帶で複製DNA合成(RDS)が10倍に上昇することをすでに報告した。そこでRDS促進の抑制を指標として、抗腺胃発癌プロモーター検索を試みた。

〔方法〕1群5頭の8週令F344雄ラットに、1mlのCaCl<sub>2</sub>液または0.1mlの13-cis-retinoic acidのDMSO溶液を経口投与し、1時間後に1mlの3.3M NaCl液を経口投与し、16時間後に胃幽門腺部粘膜中のRDSをin vitroで測定した。

〔結果〕胃幽門腺部粘膜中のRDSは、NaClのみを投与した群では、蒸留水のみを与えた群の10倍に上昇した。この時の上昇分を100%とすると、CaCl<sub>2</sub> 100, 200, 400 mMで用量反応性を示して抑制し、400mMで80-100%抑制した。13-cis-retinoic acidは体重1kg当たり10μg-10mg投与で抑制が無かった。

〔結論〕CaCl<sub>2</sub>がラット腺胃で抗発癌プロモーターである可能性が明らかになった。13-cis-retinoic acidは腺胃では効果がなかった。

## P-65

カドミウムによる適応応答誘導の特異的阻害

○今枝孝夫、高橋和彦、川添 豊(名市大・薬)

大腸菌では低濃度のメチル化剤で前処理することにより適応応答が誘導され、細胞は種々のアルキル化剤に対して殺細胞性、変異原性への抵抗性を獲得する。演者らは、金属イオンの変異原性修飾因子としての可能性を検討する目的で大腸菌CSH26/pYM3(ada'-lacZ')を用いてMNUにより誘導される $\beta$ -galactosidase活性に対する金属イオンの効果を調べたところ、Cdが強い阻害作用を示すことを見出だした。本研究では、この阻害作用の機構を明らかにする目的でプラスミドpYM3(ada'-lacZ')、pMCP1000(alkA'-lacZ')、pSK1002(umu'-lacZ')を持つ大腸菌CSH26株を用いて、MNU、MMS、MeI、UV等の変異原性物質により誘導される $\beta$ -galactosidase活性に対する効果を検討した。

いずれの菌株に対してもCdは0.1 mMの濃度までは著しい細胞増殖阻害を起こさなかった。この濃度範囲で、CdはCSH26/pYM3(ada'-lacZ')ないしはCSH26/pMCP1000(alkA'-lacZ')を用いた時、すべてのメチル化剤により誘導される $\beta$ -galactosidase活性を阻害した。しかし、CSH26/pSK1002(umu'-lacZ')を用いた時、UVにより誘導される $\beta$ -galactosidase活性に対してはCdの効果は見られなかったのに対し、MNUにより誘導された $\beta$ -galactosidase活性をむしろ増加させた。すなわち、Cdは細胞増殖を阻害しない濃度において誘導剤の種類にかかわらず、SOS応答の誘導を阻害せずに適応応答の誘導を効率良く阻害することを明らかにした。

## P-66

大腸菌におけるMNNG誘発突然変異に対する $\alpha$ -vanillinの増強効果

○渡辺 佳津子、太田 敏博、加藤 朋子、白須 泰彦(残農研)

我々はすでに、 $\alpha$ -vanillin(2-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde)が大腸菌WP2s株における4NQO誘発突然変異に対して坑突然変異活性を示すことを報告した[Agric. Biol. Chem., 54, 1041 (1988)]。ところが、MNNG誘発突然変異に対しては $\alpha$ -vanillinが増強的に作用することを見い出したので、ここで報告する。

$\alpha$ -vanillinはMNNG処理した大腸菌WP2s株の誘発突然変異体数を著しく増加した。また、 $\alpha$ -vanillinの誘導体である2-hydroxy-3-ethoxybenzaldehyde,  $\alpha$ -hydroxybenzaldehydeおよび $\alpha$ -anisaldehyde( $\alpha$ -methoxybenzaldehyde)においてもMNNG誘発突然変異に対する増強効果が認められた。この増強効果には、benzaldehydeの2位に水酸基および3位にメチル基(エチル基)が必要であると考えられた。さらに、アルキル化剤7化合物(MNU, MMS, DMS, ENNG, ENU, EMSおよびDES)およびAF-2で $\alpha$ -vanillinの影響を調べたところ、MNUにおいては誘発突然変異に対する増強効果が、AF-2においては4NQOと同様に誘発突然変異に対する坑突然変異活性が認められた。同一化合物が変異原により逆の作用を示すことは興味深いことである。現在、 $\alpha$ -vanillinのMNNG誘発突然変異に対する増強効果の作用機構について検討中である。

## P-67

アルキル化剤の突然変異誘発にはSOS反応も関わる  
○寺西利之、布柴達男、西岡 一（同志社大、生化研）

大腸菌における、UV、4NQO、AF-2などの突然変異誘発の機構は、DNA損傷によって、recA、lexA両遺伝子が制御する15個以上のSOS遺伝子を発現し、このうちのumuC遺伝子によって起こるSOS mutagenesis(error-prone repair)による。

一方、MNNG、EMSなどアルキル化剤は、DNAの塩基をアルキル化するが、特に、guanineの0<sup>6</sup>位では、cytosineとの水素結合が阻害され、DNA複製の際に、高頻度でthymineが取り込まれ、GC→ATのtransition型変異を誘発する。また、これらアルキル化剤の変異原性はSOS mutagenesis欠損株(umuC変異株)でも検出できる。従って、アルキル化剤の突然変異誘発には、SOS mutagenesisは無関係だと考えられてきた。

しかし、アルキル化剤によるSOS遺伝子群の発現を、我々が開発したRec-lac testや、umu-testで調べると、明らかに陽性を示す。しかも、guanineの0<sup>6</sup>位のアルキル化は、全体のわずか10%程度であると報告されている。これらのこととは、アルキル化剤による突然変異誘発には、SOS mutagenesisも関係する可能性がある。

これを証明するため、recAと $\lambda$ lacZの融合遺伝子をgenomeにもち、araD遺伝子を欠損する大腸菌を、MNNGで処理後二分し、recA遺伝子の発現量と、誘発されるアラビノース抵抗性前進変異を同時に調べた。その結果、両者の量効果関係には有意な相関関係が認められた。このことは、MNNGによる突然変異誘発は、SOS mutagenesisが関わることを示している。現在、ENNG、EMS、MNUなどについても検討中である。

## P-68

*Salmonella typhimurium* G46株におけるmitomycin Cのumu遺伝子の誘発増加

○安永勝昭、浅井紀子、吉川邦衛（三菱化成総合研 第2研究部門安全性研）

〔目的〕 DNAのcross-links 損傷として知られているmitomycin Cは、サルモネラ菌、大腸菌など一連のuvr 株に殺菌効果を示すのみで、突然変異を誘発しない。しかしながら、mitomycin Cはサルモネラ菌、大腸菌などのuvr 株でumu遺伝子能を誘発することが、加藤ら（阪大医）、小田ら（大阪公衛研）および大西ら（奈良医大）によって報告してきた。uvr遺伝子がumu遺伝子能の誘発にどのように関与しているかを知るために、まずuvr遺伝子をもつG46株に、TA1535由来のpSK1002 plasmid を導入し、umu遺伝子の誘発能をmitomycin Cで検討した。その結果、umu遺伝子能はuvr株(TA1535)に比較し、約3～4倍程度の強さで誘発され、DNA cross-links損傷におけるumu遺伝子能の誘発にはuvrB遺伝子が重要な機能を占めていることが示された。

〔実験方法〕 pSK1002 plasmid はTA1535/pSK1002 株からBirnboim and Dotyの方法で精製し、G46株はplasmid 受容菌としたのち、G46/pSK1002 株を選択した。umu遺伝子能の誘発は、常法に従い $\beta$ -galactosidase活性を測定した。

〔実験結果〕 Mitomycin C を使用したumu遺伝子の誘発能を以下の表に示した。

Conc. ( $\mu$ g/ml)	TA1535/pSK1002		G46/pSK1002	
	umu killing (ratio) (OD <sub>600</sub> )	umu killing (ratio) (OD <sub>600</sub> )	umu killing (ratio) (OD <sub>600</sub> )	umu killing (ratio) (OD <sub>600</sub> )
0	—	0.684	—	0.698
0.01	1.22	0.686	1.75	0.713
0.02	1.53	0.672	3.70	0.699
0.05	1.86	0.653	5.13	0.712
0.1	3.28	0.661	9.89	0.722
0.2	3.97	0.464	11.51	0.614
0.5	5.77	0.457	17.03	0.577
1.0	6.43	0.420	22.55	0.519
2.0	6.23	0.383	23.43	0.468
5.0	4.59	0.312	19.20	0.373

## P-69

mucAB遺伝子の発現と突然変異誘発の増強（続報）

○田ノ岡 宏、田中 和彦（国立がんセ、研、放射線）

mucABの機能によって一連の腸内細菌は、変異原による致死から回復すると同時に、その誤まり修復によって突然変異が増大する。われわれは、さきにこのmucABを含む1982bp (muc364)の塩基配列を決定し、pBR322に接いでクローニングした。さらにプロモータ部のSOS boxを除いたものmuc1017を用意した。今回は、mucAおよびmucBの塩基配列より推定したMucAおよびMucB蛋白のアミノ酸配列の分析により、抗原活性が期待されるポリペプチド(13-17AA)を依頼合成（東レリサーチセンタ）し、これによってモルモットを免疫し、MucAおよびMucBに対する抗体を含む血清を得た。

muc364およびmuc1017をそれぞれ大腸菌-枯草菌シャトルベクターpTE22Rの枯草菌プラズミドpE194 Eryプロモータ（堀之内ら1982）の下流に接いで、宿主大腸菌(WP2他) および枯草菌 (UHP仮称：プロテアーゼ欠損、UV感受性、hisマーカ付) に入れ、菌を増殖させたのちその蛋白をウエスタンプロットによって分析した。これによってMucB抗体に反応する46kdの蛋白の生成を認めた。すなわち枯草菌におけるMuc蛋白の生成をはじめて認めた。MucA蛋白(17kd)に相当する蛋白の生成も認められているが、突然変異誘発増強活性に関与するとみられるMucAのAla<sup>26</sup>-Gly<sup>27</sup>部における14kdと3kdへの切断はまだ確かめられていない。さらにメタロチオネインプロモータにつないだmuc1017を用いてマウス10T1/2培養細胞における発現を現在追跡中である。

## P-70

ステビオールにより誘導されたサルモネラ突然変異のプラスミッドDNAを用いる解析

○松井道子、松井恵子、能美健彦、水沢 博、石館 基（国立衛生試験所 変異原性部）

天然甘味料として利用されているステビオールは経口的に摂取されると腸管内で配糖体が除かれステビオールとなる。ステビオールはAmes試験では変異原性を示さないが、前進突然変異試験（Forward mutation assay *S.typhimurium* TM677, 8-AG耐性）ではS9mix 存在下で変異原性を示す（J. M. Pezzuto et al : PRNAS, 82, 2478, 1985）。この結果からステビオールは代謝活性化を受けた後、比較的大きな変異（欠失、挿入、置換）を引き起こす可能性が示唆された。昨年、我々はクロモソームDNAについてサザンプロット法を用いる解析を行い、ステビオール未処理株と処理株の間に差が認められなかつたことを報告した。今回は、キサンチン グアニン ホスホリボシル トランスフェラーゼを含むプラスミッド(pSV2-gpt)を用い、ステビオールにより突然変異を誘導し、その構造解析を行った。ステビオールで処理しない場合は、200コロニー中1個の突然変異体が得られ、ステビオール処理した後は、375コロニー中9個の突然変異体が得られた。親株を含む合計11株からプラスミッドDNAを生成し、制限酵素で切断後ポリアクリルアミドゲル電気泳動で解析した。その結果、ステビオール処理した株には比較的大きなDeletionが観察された。9株中6株にDeletionが認められ、その大きさは200bから4kbであった。

（参考文献）  
義平邦利他：トキシコロジーフォーラム, Vol.10 (3), 281, 1987

## P-71

シノキサートおよびメチルシナペートのSCE、染色体異常誘発増強作用（第2報）

○下位香代子<sup>1</sup>、中村好志<sup>1</sup>、野呂忠敬<sup>1</sup>、富田勲<sup>1</sup>、佐々木有<sup>2</sup>、今西久子<sup>2</sup>、白須泰彦<sup>2</sup>（<sup>1</sup>静岡県立大薬、<sup>2</sup>残留農薬研）

大腸菌においてUV誘発突然変異増強作用を示したシノキサートおよびメチルシナペートが、哺乳動物細胞におけるMMCまたはUV誘発SCE頻度を増加し、さらにメチルシナペートが染色体異常頻度も増加することを昨年の本学会で報告した。大腸菌を用いた研究により、これら化合物がDNA除去修復を阻害し、その結果、突然変異増強作用を示すものと考察されたが、今回は哺乳動物細胞におけるこれらの作用機構についてさらに検討した。

チャイニーズハムスター-CHO-K1細胞において両化合物は、MMCおよびUVの場合と同様、4NQO誘発SCE頻度を有意に増加させた。メチルシナペートは4NQO誘発染色体異常頻度も増加させたが、X線によるSCEおよび染色体異常の誘発に対しては増強作用は全く認められなかった。メチルシナペートのUV誘発SCEおよび染色体異常に対する増強効果は主としてG1期に見られ、また、liquid holdingにより細胞をG1期に保持した場合、メチルシナペートの添加によりUV誘発SCEおよび染色体異常の低下が抑制された。さらに、ヒト正常細胞とDNA除去修復が欠損している相補性A群色素性乾皮症患者由来XP30S細胞を用いてUV誘発SCEへの影響を調べたところ、正常細胞では増強作用が認められたが、XP30S細胞においては全く認められなかった。

以上の結果より、メチルシナペートはDNA複製前に働くDNA除去修復を阻害し、修復されずに残された損傷が原因となってSCEおよび染色体異常誘発が増強されたものと結論された。シノキサートについても同様の機構が推定された。哺乳動物細胞においてこれら化合物は、微生物の場合と同じような効果を示し、両者のDNA修復機構における共通点を示唆した。

## P-72

多剤耐性細胞の分離と変異原物質に対する感受性について

○仁藤新治、近藤靖、有行史男、岡庭梓（田辺製薬、安全研）

薬剤耐性のうち特に制ガン剤に対する耐性は、制ガン剤の作用機序を解明するうえだけでなく、癌の化学療法に際して経験される耐性獲得にも重要な意味を持つものと考えられる。今回、我々はチャイニーズハムスター由来のCHO細胞からコルヒチン(CH)抵抗性を指標にして、多段階濃度勾配法によりCH抵抗性株(CH<sup>r</sup>)を分離し、各種変異原物質に対する感受性について検討を行った。

分離されたCH耐性株のうちCH<sup>r</sup>-5000は親細胞に比べて約110倍の抵抗性を示した。さらに、CH<sup>r</sup>細胞は抗生物質タイプの変異原物質であるマイトマイシン、アクチノマイシン、ダウノマイシン、ブレオマイシンおよびアドリアマイシンに対して4~111倍の交叉耐性を示した。これらの交叉耐性を示した変異原物質については、染色体異常誘発率に対しても明かな抵抗性を示した。一方、これらの多剤耐性(MDR)細胞は化学物質タイプの変異原物質である4NQO、EMS、カフェイン、MNNNGおよびMMSに対しては、交叉耐性および染色体異常誘発率に対する抵抗性を示さなかった。

これらのMDR細胞では細胞膜に変異を起こし、物質を細胞外へ放出する能動的排出ポンプの機能が亢進しているものと考えられることから、核型分析についても同時に検討を加える。

## P-73

バニリンのin vitroおよびin vivoにおける突然変異抑制作用

○今西久子、佐々木有、松元郷六、太田敏博、白須泰彦（残留農薬研究所）

昨年の本学会において、in vitroおよびin vivoにおけるバニリンの染色体異常誘発抑制効果を示した。今回、バニリンの突然変異誘発抑制作用をin vitroおよびin vivoにおいて検討した結果を報告する。

チャイニーズハムスター由来のV79細胞をX線またはエチルメタンスルホン酸で処理し、バニリン存在下の発現時間を経た後、6TG耐性変異体数を計測した。その結果、バニリン処理に起因する6TG耐性変異体数の減少が認められた。同時に、X線処理後の生存率がバニリン処理によって上昇した。

in vivoにおけるバニリンの突然変異抑制作用をマウススポットテストにより検討した。雌マウスにエチルニトロソ尿素を腹腔内に投与した後、バニリンを3回経口投与した。その結果、バニリン投与群の劣性変色班を有する仔の出現頻度に有意な減少が認められた。なお、腹当りの仔数には変動がなかった。以上の結果より、バニリンはin vitroおよびin vivoにおいて突然変異の誘発を抑制する作用があることが確認された。

## P-74

Erythropoiesisから見た小核試験（その4）Prostaglandin E<sub>2</sub>の小核誘発能に与える影響

○鈴木勇司<sup>1</sup>、戸田昌平<sup>2</sup>、清水英佑<sup>1</sup>

（<sup>1</sup>慈恵医大 公衛、<sup>2</sup>相互生物医学研究所）

我々は、erythropoiesisの変化が小核試験の結果に影響を及ぼすことを明らかにしてきた。今回は、prostaglandin E<sub>2</sub>(PGE<sub>2</sub>)の小核誘発能に及ぼす影響を検討した。

〈方法〉 BALB/c雄マウスに、PGE<sub>2</sub>を腹腔内に投与してから1, 24または48時間目に、変異原物質(mitomycin C: MMC, vincristine: VCR等)を腹腔内に投与した。その30時間後に骨髄細胞を得て標本を作製した。

〈結果〉 1. PGE<sub>2</sub>には、小核誘発能が認められなかった。2. PGE<sub>2</sub>を前投与する時期については、変異原物質(MMC)を投与する25時間前(25>1>48時間前)が最も強い小核誘発能を示した。3. PGE<sub>2</sub>の投与量と変異原物質(MMC)による小核誘発頻度との間に量-反応関係が認められた。4. MMCの他にVCR等もPGE<sub>2</sub>により小核誘発頻度が増強した。

〈考察〉 前回、PGE<sub>2</sub>の合成阻害剤であるindomethacinが変異原物質による小核誘発頻度を低下させることを報告し、さらに今回の結果から、PGE<sub>2</sub>がerythropoietin産生を促進し、その結果erythropoiesisが亢進して変異原質による小核誘発頻度が増強したと考えられる。

(その5) Caキレート剤の小核誘発能に与える影響

鈴木勇司<sup>1</sup>, ○戸田昌平<sup>2</sup>, 清水英佑<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>慈恵医大 公衛, <sup>2</sup>相互生物医学研究所)

我々はerythropoiesisの変化が小核試験の結果に影響を及ぼすことを明らかにしてきた。そこで今回は、Caキレート剤のEGTA ( ethylene glycol-bis-( $\beta$ -aminoethyl ether)-N, N,N',N'-tetraacetic acid ) が小核試験に与える影響を検討したので報告する。

〈方法及び結果〉 1. EGTAには、小核誘発能を認めなかった。 2. BALB/cマウスに mitomycin C (MMC:0.3mg/kg) を腹腔内投与する1, 25又は49時間前にEGTA (200mg/kg) を1回腹腔内投与した。その30時間後に骨髄細胞を得た。EGTAとMMCの投与間隔が短いほどMMCによる小核の誘発が抑制された。次にEGTAの投与回数を検討したところ、2回投与 (MMC投与の1及び25時間前に投与した) が1回投与より MMCによる小核の誘発を抑制した。 3. EGTA(200,100, 50mg/kg) を2回腹腔内に投与した時のMMCによる小核誘発頻度を検討した。EGTAの投与量が高いほどMMCによる小核誘発能は抑制された。

〈考察〉 赤芽球系細胞の分化増殖にCaが関わっていることが知られている。したがって、EGTAは生体内Caを減少させ、赤芽球系細胞の分化増殖を抑制させると考えられる。以上により、erythropoiesisの抑制が変異原物質による小核誘発頻度を低下させると考えられる。

○室田哲郎, 井上由起, 中村ゆり,  
杉本次郎  
(三菱化成総合研究所第2研究部門  
安全性研究所)

エチルニトロソウレア (ENU) をマウスの精原細胞に処理して、毛色などの形態学的遺伝子座と電気泳動により分析されるヘモグロビン遺伝子座を指標に特定座位試験を実施した。F<sub>1</sub>個体でのヘモグロビンの変異はセルロース・アセテート膜電気泳動より分析した。ヘモグロビン遺伝子座を分析した2400個体のF<sub>1</sub>に2つの変異体が検出され、両突然変異ともホモviableであることが確認された。

両突然変異遺伝子 (座) をそれぞれC57BL/6J系マウスにcross-intercross交配法により導入した。導入の過程で得られたホモ個体から常法に従いグロビン鎖を分離・精製した。異常グロビン鎖は等電点電気泳動により検出した。その結果、変異体のうち1個体はヘモグロビン $\beta$ 鎖、またもう1個体はヘモグロビンの $\alpha$ 鎖遺伝子座の変異体であることが確認された。

さらに現在、両変異体の赤血球の形態について、走査電顕により検索している。本回では、ENU処理により得られたヘモグロビン変異体の異常グロビン鎖の検出、さらに変異体の赤血球の走査電顕による形態学的検索の結果について報告する。

## 索引・謝辞

# 人名索引

[A]	藤本 隆志 O-24
阿部 和浩 P-11	藤本 佳範 O-16
阿部 達生 P-60	藤岡 靖弘 P-32
梶山 雅子 P-24	福井 昭三 P-32, P-33, P-57
天野 浩貴 O-24	福岡 正芳 P-42
安藤 信明 P-49	降旗 千恵 受賞講演, P-50, P-64
青木 豊明 P-7	古川 明美 P-8
荒木 明宏 P-23	古川 秀之 O-7, O-26
有元佐賀恵 O-17, P-1, P-21, P-26	
[G]	
有田 泉 O-12	後藤 敦 P-30
有行 史男 P-72	後藤 純雄 P-40, P-42, P-43
有賀 文彦 P-49	
浅井 紀子 P-68	
朝倉 正登 P-30	
浅野 哲秀 P-49	
青儀 巧 P-49	
[H]	
Bartsch, Helmut P-19	蜂谷 紀之 O-19, P-49
Brouet, Isabelle P-19	箱守 健二 P-38
	花崎有紀子 P-33
[B]	原 正樹 P-49
	原 巧 O-33, P-49, P-52
	長谷川 明 P-38
	長谷川潤二 P-61
[C]	橋本 英利 P-25
陳 琥芳 (chin, Kaho) P-56	服部 千春 P-9
	Hautefeuille, Agnes P-19
[D]	林 和夫 P-24
伝法 公暦 O-16	林 真 P-49
	林 裕造 C-3
[E]	早津 彦哉 O-4, O-17, P-2, P-21, P-26, P-27, P-59
江幡 淳子 P-58	早津 聰子 P-26
遠藤 治 P-22, P-40, P-42	東之 稔 P-17
遠藤 立一 O-5	平山 晃久 P-32, P-33, P-57
遠藤 泰之 O-34	廣畑 一代 P-15
	廣畑 富雄 P-15
[F]	広野 巍 O-7
Friesen, Marlin P-19	久松 由東 P-31
藤江喜美子 P-7	久岡 祥子 P-12
藤川 和男 O-31	菱沼 宏哉 O-9
藤木 博太 O-34, O-35	一ツ町晋也 O-31, P-49
藤森 亮 O-12	

堀谷 尚古 O-33, P-52  
 細川真澄男 P-61  
  
**I**  
 池田 保男 P-49  
 今技 孝夫 P-65  
 今西 久子 P-71, P-73  
 稲場 文男 O-9  
 稲沢 譲治 P-60  
 井上 達生 P-49  
 井上 明子 P-58  
 井上 由起 P-76  
 石館 基 O-6, O-10, O-13, P-39, P-48, P-70  
 石原 幸治 P-52  
 石井 永 P-16  
 石井 裕 O-15  
 石野 正蔵 P-16  
 板井 昭子 O-34  
 伊東 悟 P-9  
 伊藤 義明 P-6  
 糸目 千穂 O-17  
 岩藤 弘子 O-4  
 岩原 繁雄 P-13  
 岩見 稔彦 O-2  
 岩田 仁 P-5  
 岩田 好史 P-44, P-45  
  
**J**  
 實成 文彦 P-30  
  
**K**  
 鎌滝 哲也 O-25  
 鎌谷 直之 O-12  
 神谷 明男 O-3  
 神谷 昌嗣 O-21  
 金指久美子 P-13  
 軽部 敏昭 P-10  
 笠原 義典 P-29  
 葛西 宏 O-8, P-35, P-36  
 片山 敬 P-42  
 加藤 典代 P-23

加藤 隆一 O-23  
 加藤 珠実 O-20  
 加藤 哲太 O-1  
 加藤 朋子 P-66  
 川原 浩 O-5  
 河井 一明 O-7, O-26  
 川添 豊 O-21, P-65  
 菊川 清見 O-1  
 木村 修一 O-9  
 木苗 直秀 P-14  
 木内 武美 P-34  
 岸 美智子 P-49  
 北田 光一 O-25  
 北川 義徳 P-20, P-49  
 北川 繁幸 O-24  
 小林 博 P-61  
 児玉 由香 P-18  
 幸田 光復 O-21  
 小泉 直子 P-25  
 小島 基義 P-49  
 小森 雅之 O-25  
 近藤 耕治 P-49  
 近藤 靖 P-49, P-72  
 龔 瑞林 (Kong, Zwe-Ling) P-63  
 小菅 卓夫 O-2  
 洪 清霖 (Kou, Seirin) P-56  
 雲 聰 P-57  
 国友 順一 P-16  
 倉島由紀子 O-20  
 黒川 雄二 O-8, P-36

**L**  
 Lewtas, Joellen P-29, P-43

**M**  
 前田 盛 P-6  
 蒔田徳太郎 O-29  
 牧田 寿男 P-49  
 Malaveille, Christian P-19  
 真鍋 芳樹 P-30  
 又木 克昌 P-14  
 俣野 景典 P-17

松井 恵子 P-70  
 松井 道子 P-70  
 松本久美子 P-29  
 松元 郷六 P-62, P-73  
 松岡 厚子 O-6, P-48  
 松島泰次郎 P-18, P-23, P-50, P-64  
 松下 秀鶴 P-22, P-31, P-40, P-42, P-43  
 松下 洋久 P-22  
 Medhat, Abu-Zeid O-23  
 Michael, D.Shelby P-48  
 三沢 信一 P-60  
 三浦 邦彦 O-28  
 宮田 直樹 O-6  
 水沢 博 O-13, P-70  
 望月 正隆 P-21, P-22  
 森 秀樹 P-5  
 森 道夫 O-16  
 森 良雄 P-5  
 森本 功 P-16  
 森本 兼曩 O-28  
 森田 健 P-46, P-47, P-49  
 宗像 信生 O-11  
 村上 浩紀 P-63  
 村上貴美恵 P-42  
 村岡 知子 P-12, P-26  
 村田 共治 P-49  
 村田 元秀 P-40, P-43  
 室田 哲郎 O-33, P-76

**O**  
 落合 雅子 O-14  
 小田切陽一 P-10  
 小川俊次郎 P-57  
 小原 淑子 P-26  
 大江 武 P-60  
 大垣比呂子 P-3  
 大井 浩明 O-25  
 大西 克成 P-17, P-34  
 大島 寛史 P-19  
 大島 稔彦 P-49  
 太田 和秀 O-25  
 太田 敏博 P-62, P-66, P-73  
 大内田昭信 P-8, P-49  
  
**N**  
 長尾美奈子 S-1, O-2, O-14, O-16, P-3, P-4, P-20, P-37, P-53  
 長瀬 すみ O-14  
 内藤 允子 O-4  
 中井 康晴 O-29  
 中島 圓 P-49  
 中島 泰知 P-30  
 中島 由弥 O-31  
 中村 稔 O-31  
 中村 清一 P-28

奥村 和夫 P-46, P-47

大村 浩久 P-63

長田 和実 O-9

小瀬 洋喜 O-3, P-41

押村 光雄 S-3, P-44, P-45

小笛 茂 P-32

小沢 敬弘 P-14

Q  
権太 浩 (Qan, Tai-Hao) O-19

R  
Rao, M.S. P-35  
Reddy, J.K. P-35  
梁 治子 O-30, P-51

S  
佐井 君江 O-8, P-36  
斎藤 寛 P-26  
佐治 文隆 O-15  
坂上 吉一 P-41  
茂本 博 P-27  
坂本 京子 P-11, P-13  
鯨島 顕二 O-31  
鯨島 義弘 O-15  
笛川 千晶 P-18  
佐々木澄志 O-13  
佐々木 有 P-62, P-71, P-73  
佐々木 壽浩 O-35  
佐武左知子 P-9  
佐藤 精一 P-49  
佐藤 静治 O-32  
佐藤 忠夫 P-49  
佐藤 孝彦 O-3, P-41  
佐藤 利文 P-9  
沢田 稔 P-39, P-48  
澤田 繁樹 P-50  
澤村 良二 P-38  
関 敏彦 P-29  
仙皮 まり P-11  
仙石 葉子 O-21  
世良 暢之 O-18, P-15

紫原 俊一 P-51  
瀧谷 徹 O-33, P-52  
島 礼 O-14  
島田 浩美 P-21  
島田 弘康 P-9, P-49  
清水 英佑 P-24, P-56, P-74, P-75  
下位香代子 P-71  
下村 真司 P-32  
神藤 康弘 P-49  
篠原 和毅 P-63  
四宮 順子 O-29  
塙谷 晃子 P-2  
塙谷 まみ P-37  
白須 泰彦 P-62, P-66, P-71, P-73  
首藤 紘一 O-34  
蘇 哲民 P-56  
祖父尼俊雄 O-6, P-39, P-48  
染矢 朗子 P-38  
蘭田 精昭 P-60  
菅沼 雅美 O-35  
杉本 次郎 P-76  
杉村佳洋子 O-27  
杉村 隆 C-1, O-2, O-14, O-16, O-20, O-35, P-3, P-4, P-20, P-37, P-53  
杉田佐和子 P-43  
杉山千代美 P-49  
杉山 武敏 P-6  
村主 浩子 O-35  
須藤 鎮世 O-32, P-49  
諏訪 芳秀 O-2  
鈴木 文男 S-2  
鈴木 洋 P-49  
鈴木 美加 O-14, P-20  
鈴木 修三 P-49  
鈴木 勇司 P-24, P-74, P-75

T  
立花 章 O-12  
高木 篤也 O-8, P-36  
高木 寛治 O-35  
高木 敏彦 P-40, P-43

高萩 真彦 P-55  
高橋 和彦 O-21, P-65  
高橋 伸也 O-1  
高橋 陽子 P-29  
高鳥 浩介 P-11  
高山 京子 P-4  
武部 啓 O-12  
武田 憲三 P-46, P-47  
武田 知明 P-40  
竹本 和夫 P-10  
竹中 重幸 P-15  
竹内 正紀 P-49  
滝澤 行雄 O-19  
玉川 勝美 P-29  
田村 博信 P-49  
田中 和彦 P-69  
田中 憲穂 O-13, P-11, P-44, P-45  
田中 卓二 P-5  
谷脇 雅文 P-60  
田ノ岡 宏 P-69  
辰巳 淳 O-24  
巽 紘一 O-12  
寺西 利之 P-67  
戸田 昌平 P-74, P-75  
常盤 寛 P-15  
富田 勲 P-14, P-71  
董 一致 P-56  
豊田万里子 O-12  
土川 清 受賞講演  
津田 充宥 O-20  
津田昌一郎 P-60  
辻 邦郎 O-2  
角田 行 P-29  
津志本 元 P-51  
津吉 俊 P-49

U  
宇田 直人 O-35  
上田 健治 O-24  
植田 吉純 P-53  
鶴川さと子 P-21  
梅村 隆志 O-8, P-36

W  
若林 敬二 O-2, P-3, P-4, P-20, P-37, P-53  
渡部 烈 O-22  
渡辺富士雄 P-16  
渡辺佳津子 P-67  
渡辺 雅彦 O-10  
渡辺 昌 P-10  
渡辺 徹志 P-32, P-33, P-57  
渡辺 芳江 P-46, P-47  
Wirth, Peter J. O-14, O-16

Y  
八木 君枝 O-29  
山田 静之 O-35  
山田 高司 P-57  
山影 康次 P-44, P-45  
山本 雅子 P-22  
山中 健三 P-38  
山下 克美 P-3, P-4, P-20  
山下みつ子 P-14  
山崎 浩志 P-41  
山添 康 受賞講演, C-2, O-23  
安元 健 O-35  
安永 勝昭 P-68  
横田 慎 S-4  
横山 浩 P-41  
吉田 敦子 P-21  
吉田 良一 P-8  
吉川 邦衛 P-68  
吉見 直己 P-5  
吉岡 新 O-22  
吉澤 滋 O-35

# 物質名索引

## A

- Acetic acid ..... P-46  
 Acetone ..... O-27  
 Acetophenone ..... O-27  
 2-Acetylaminofluorene ..... O-17, O-25, P-49, P-50  
 Actinomycin D ..... P-72  
 Adriamycin ..... P-72  
 AF-2 ..... P-24, P-58  
 Aflatoxin B<sub>1</sub> ..... O-9, P-51  
 Aflatoxin B<sub>2</sub> ..... P-51  
 Aflatoxin G<sub>1</sub> ..... P-51  
 Aflatoxin M<sub>1</sub> ..... P-51  
 Air pollutants ..... O-4, P-30, P-43  
 Alcohol sulfate ..... O-15  
 Alkylhydrazine ..... P-22  
 2-Aminoanthracene ..... O-10  
 4-Aminobiphenyl ..... O-24  
 2-Amino- $\alpha$ -carboline ..... P-53  
 2-Aminofluorene ..... O-24  
 2-Aminonaphthalene ..... O-24  
 Aminophenazines ..... P-33  
 1-Aminopyrene ..... O-24  
 1- $\beta$ -D-Arabinofuranosylcytosine ..... P-49  
 L-Arabinose ..... P-67  
 N-Arylformamides ..... O-24

## B

- Bamethan ..... P-18  
 Bandrowski base ..... P-54  
 Benz[a]anthracene ..... P-6  
 Benzene ..... P-9, P-49  
 Benzo[ghi]perylene ..... P-30  
 Benzo[a]pyrene ..... O-5, O-9, P-30, P-47, P-49, P-56  
 Berberine hydrochloride ..... P-16  
 BHA ..... O-6  
 BHA-OH ..... O-6  
 BHA-O-Q ..... O-6

- BHQ ..... O-6  
 Bleomycin ..... P-52, P-72  
 Blue cotton ..... O-1, O-4, P-12, P-26  
 Blue rayon ..... P-26, P-27  
 Blue resin ..... P-26  
 BM-cycline ..... P-11  
 Bovine serum albumin ..... P-14  
 BQ ..... O-6

## C

- Cadmium ..... P-65  
 Calcium chrolide ..... P-64  
 $\beta$ -Carboline ..... P-3  
 Carbon tetrachloride ..... P-50  
 Chlorine ..... P-7  
 Chlorine dioxide ..... P-7  
 Chlorophyllin ..... O-17, P-59  
 Cigarette smoke ..... P-10, P-53  
 Cinoxate ..... P-71  
 Ciprofibrate ..... P-35  
 Cisplatin(CDDP) ..... P-60  
 Clofibrate ..... O-8  
 Coffee ..... O-1, P-37  
 Colcemid ..... P-44, P-45  
 Colchicine ..... O-32, P-49  
 Corn bran ..... O-18, O-19  
 4-Coumaric acid ..... P-18  
 Cycasin ..... O-7  
 Cysteine ..... P-55  
 Cytochrome P-450 ..... O-25

## D

- Daunomycin ..... P-72  
 Degraded carrageenan ..... O-7  
 Diacetyl ..... O-2, P-23  
 1, 1-Dialkylhydrazine ..... P-22  
 1, 2-Dialkylhydrazine ..... P-22  
 2, 7-Diaminophenazine ..... P-33  
 2, 6-Diaminopurine ..... O-12

- 3-Diazotyramine ..... P-17

- Dibromoacetonitrile ..... P-28  
 Dicentrine ..... P-16  
 Dichloroacetonitrile ..... P-28  
 $p$ -Dichlorobenzene ..... P-36  
 1, 1-Dichloropropanone ..... P-28  
 Dietary fiber ..... O-19, P-12  
 Diethylhexylphthalate ..... O-8  
 Diethylstilbestrol ..... P-8, P-45  
 4-Dimethylaminoazobenzene ..... O-11  
 9, 10-Dimethylanthracene ..... O-22  
 Dimethylarsine ..... P-38  
 Dimethylarsinic acid ..... P-38  
 7, 12-Dimethylbenz[a]anthracene ..... P-6  
 N, N-Dimethyl-p-phenylenediamine ..... P-48  
 2, 7-Dinitro-9, 10-dihydrophenanthrene ..... P-32  
 2, 7-Dinitro-4, 5-dihydropyrene ..... P-32  
 2, 7-Dinitrophenazine ..... P-33  
 Dinitropyrenes ..... O-19  
 1, 6-Dinitropyrene ..... O-3  
 1, 8-Dinitropyrene ..... O-10  
 2, 7-Dinitropyrene ..... P-32  
 2, 7-Dinitro-4, 5, 9, 10-tetrahydropyrene ..... P-32  
 Dinophysistoxin-1(DYXI) ..... O-35  
 DNA adducts ..... P-3

## E

- Ethyleneglycol-bis-(aminoethylether)-N, N', N'-tetraacetic acid(EGTA) ..... P-75  
 Ethylmethanesulfonate ..... P-52, P-73  
 N-Ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine ..... P-47  
 Ethylnitrosourea ..... O-33, P-52, P-73, P-76  
 Ethyl vanillin ..... P-8  
 Eugenol ..... P-57  
 Euphoria Longana ..... P-56

## F

- Ferric nitrilotriacetate ..... P-36  
 Fluorinated quinolines ..... O-21  
 5-Fluorouracil ..... O-31  
 Formaldehyde ..... P-23  
 Formic acid ..... P-46

- Fried meat ..... P-12

## G

- $\beta$ -Galactosidase ..... P-42  
 Glucose ..... P-13, P-14  
 Glu-P-1 ..... O-10, O-14, O-25, P-5, P-57  
 Glu-P-2 ..... P-5, P-57, P-59  
 Glutathione ..... P-55  
 Glutathione conjugates ..... P-34  
 Glyoxal ..... P-23  
 Green-Sepharose ..... O-17

## H

- v-Ha-ras ..... O-13  
 Harman ..... P-3  
 Heterocyclic amine ..... P-4  
 Heterocyclic amine-like mutagens ..... O-1  
 Homocysteine ..... P-55  
 Hydrazine ..... P-22  
 Hydrogen peroxide ..... O-2  
 N-Hydroxy-AF ..... O-23  
 8-Hydroxydeoxyguanosine ..... P-35  
 N-Hydroxy-Glu-P-1 ..... O-23  
 8-Hydroxyguanine ..... P-37  
 N-Hydroxy-IQ ..... O-23  
 9-Hydroxymethyl-10-methylanthracene ..... O-22  
 9-Hydroxymethyl-10-methylanthracene phosphate ..... O-22  
 9-Hydroxymethyl-10-methylanthracene sulfate ..... O-22  
 N-Hydroxy-Trp-P-2 ..... O-23

## I

- IQ ..... O-19, O-25

## K

- Krestin ..... P-61

## L

- Lactic acid ..... P-46  
 Lentinan ..... P-61  
 Linear alkylbenzene sulfonate ..... O-15

**M**

- MC-110 ..... P-11  
 MeA $\alpha$ C ..... P-59  
 MeIQ ..... O-1  
 MeIQx ..... O-14  
 Melanoidin ..... P-63  
 Menadione ..... P-39  
 6-Mercaptopurine ..... O-32  
 Methacrolein ..... P-23  
 3-Methoxycatechol ..... P-19  
 7-Methylbenz[*a*]anthracene ..... P-6  
 12-Methylbenz[*a*]anthracene ..... P-6  
 3'-Methyl-4-dimethylaminoazobenzene ..... O-14  
 Methylglyoxal ..... O-2  
 Methyl iodide ..... P-65  
 Methyl methanesulfonate ..... P-52, P-65, P-69  
*N*-Methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine ..... O-29, P-66, P-67  
*N*-Methyl-*N*-nitrosourea ..... P-65, P-66  
 Methyl sinapate ..... P-71  
 1-Methyl-1, 2, 3, 4-tetrahydro- $\beta$ -carboline ..... P-17  
 1-Methyl-1, 2, 3, 4-tetrahydro- $\beta$ -carboline-3-carboxylic acid ..... P-17  
 Mitomycin C  
 O-28, O-29, O-32, P-47, P-52, P-61, P-62, P-68, P-72, P-74, P-75  
 Monoalkylhydrazine ..... P-22  
 Monochloramine ..... P-7

**N**

- Nitrilotriacetic acid ..... P-1  
 Nitrite ..... O-20, P-17, P-20  
 5-Nitroacenaphthene ..... P-24  
 Nitroarenes ..... P-31  
 Nitroblue-tetrazolium ..... P-63  
 2-Nitrofluorene ..... O-5, O-10  
 Nitrogen dioxide ..... P-31  
 Nitrophenazines ..... P-33  
 1-Nitropyrene ..... O-3, O-10, O-18, P-24, P-34  
 2-Nitropyrene ..... P-31, P-32  
 1-Nitropyrene oxide ..... P-34

- 4-Nitroquinoline 1-oxide ..... P-40  
*N*-Nitrosodiethylamine ..... P-2, P-56  
*N*-Nitrosodimethylamine ..... O-11, O-26, P-2, P-47, P-50, P-53  
 1-Nitrosoindole-3-acetonitrile ..... P-20  
*N*-Nitrosomorpholine ..... P-2  
*N'*-Nitrosonornicotine ..... P-53  
*N*-Nitrosopiperidine ..... P-2, P-21  
*N*-Nitrosoproline ..... O-20  
*N*-Nitrosopyrrolidine ..... P-2, P-53  
*N*-Nitrosothioproline ..... O-20  
*p*-Nitrotoluene ..... P-8  
 Norharman ..... P-3  
 Noscapine ..... P-8  
 Novobiocin ..... O-29

**O**

- Okadaic acid (OA) ..... O-35  
 Oxygen radical ..... P-37

**P**

- 7-*O*-Palmitoyl okadaic acid ..... O-35  
 Palytoxin ..... O-35  
 Papaverine hydrochloride ..... P-16  
 Pectenotoxin 2 ..... O-35  
 Peroxidase ..... P-54  
 Phenol ..... P-19  
 Phenylephrine ..... P-18  
 Phenyl diazonium ions ..... P-19  
*o*-Phenylenediamine ..... P-48  
*p*-Phenylenediamine ..... P-54  
 Phenylglyoxal ..... O-2  
*N*-Phenyl-2-naphthylamine ..... P-48  
 Phenylpropane-1, 2-dione ..... O-2  
 PhIP ..... P-4  
 Phorbol esters ..... O-34  
 Phorbol myristate acetate ..... P-63  
 Phosphonoxy-*N*-nitrosopiperidine ..... P-21  
 Phosphoric acid ..... P-21  
 Podophyllotoxin ..... P-45  
 Proline ..... O-20  
 Prostaglandin E<sub>2</sub> ..... P-74

- pSV2-gpt ..... P-70  
 Pyrene ..... P-31  
 Pyruvicaldehyde ..... P-23

**Q**

- Quercetin ..... P-15  
 Quinoline ..... O-21

**R**

- 13-*cis*-Retinoic acid ..... P-64  
 Rhamnetin ..... P-15  
 Rice fiber ..... O-18  
 Roemerine hydrochloride ..... P-16

**S**

- Salmonella typhimurium* SD100 ..... P-58  
 Simfibrate ..... O-8  
 Sodium chloride ..... P-64  
 Sodium thiosulfate ..... P-60  
 Soy sauce ..... P-12  
 Steviol ..... P-70  
 Stevioside ..... P-70  
 Synephrine ..... P-18

**T**

- Tannic acid ..... P-62  
 Teleocidin ..... O-34  
 2, 3, 5, 6-Tetrachlorophenol ..... P-48  
 Tetracycline ..... P-11  
 Thiabendazole ..... P-8  
 Thioneine ..... P-55  
 Thioproline ..... O-20  
 Thymidine monophosphate ..... O-31  
 Tiamulin ..... P-11  
 Toasted bread ..... P-26  
 TPA ..... O-13  
 2, 3, 6-Trichlorophenol ..... P-48  
 1, 1, 1-Trichloropropanone ..... P-28  
 2, 2, 4-Trimethylpentane ..... P-36  
 Trp-P-1 ..... O-18, O-19, P-5, P-57, P-59  
 Trp-P-2 ..... O-9, O-17, O-25, P-5, P-57, P-59  
 Tylosin ..... P-11

- Tyramine ..... P-17, P-18

**U**

- Urethan ..... O-30  
 Ushisunine ..... P-16  
 UV ..... P-21, P-65, P-69

**V**

- Vanillin ..... P-19, P-66, P-73  
 Vegetable ..... P-58  
 Vincristine ..... P-45, P-74

**X**

- XAD-2 ..... O-1  
 Xanthine-guanine phosphoribosyl transferase ..... P-70  
 X-ray ..... P-73

## 謝 辞

本大会を開催するにあたり下記の企業より多大の御援助を頂きました。

ここに記して感謝の意を表します。

日本環境変異原学会第17回大会組織委員長  
長 尾 美 奈 子

株式会社アシスト	武田薬品工業株式会社中央研究所
岩井化学薬品株式会社	中外製薬株式会社
エーザイ株式会社	株式会社津村順天堂
エルゼビアサイエンスパブリッシャーズ	東京エム・アイ商会株式会社
大塚製薬株式会社	東ソ一株式会社
協和醸酵株式会社	東レ株式会社
杏林薬品株式会社	株式会社ナード研究所
興和株式会社	日本化薬株式会社
株式会社サイエンスフォーラム	日本たばこ産業株式会社
サクラ精機株式会社	藤沢薬品工業株式会社
三基科学工芸株式会社	フナコシ薬品株式会社
三共株式会社	ブリストル・マイヤーズ株式会社
サントリ一株式会社	三井製薬工業株式会社
塩野義製薬株式会社	株式会社モリタカメラ
住友製薬株式会社	ラボシステムジャパン株式会社
株式会社相互生物医学研究所	有限会社和科盛商会
大鵬薬品株式会社	

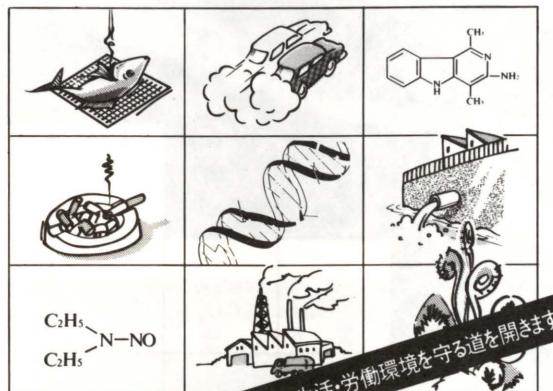
(50音順)

umu-テスト

# ウムラック

変異原性試験キット

ウムラックは品川(阪大微研)等により開発された短期変異原性試験 *umu*-テストをキット化したもので、この試験は、DNAへの損傷により誘発される一連の遺伝子群(SOS遺伝子)のうち突然変異に直接関与している *umu* 遺伝子の発現を  $\beta$ -galactosidase活性を指標として測定する方法です。



ウムラックは突然変異原物質の影響から生活・労働環境を守る道を開きます。

### Amesテスト及び発癌性試験との比較

被験物質	ウムラック	Ames-テスト	発癌性
Aflatoxin B <sub>1</sub>	+	+	+
AF-2 (Furylfuramide)	+	+	+
Auramine	-	-	+
Benzene (a) pyrene	+	+	+
Benzene	-	-	+
Bleomycin	+	+	+
$\beta$ -Propiolactone	+	+	+
Daunorubicin	+	+	+
Dimethylnitrosamine	+	+	+
Glu-P-1, -2	+	+	+
IQ, MeIQ, MeIQx	+	+	+
Methylmethanesulfonate	+	+	+
Mitomycin C	+	+	+
N-Methyl-N-nitrosourea	+	+	+
Quercetin	+	+	-
Streptozotocin	+	+	+
Sodium azide	-	+	-
Trp-P-1, -2	+	+	+
2-Aminoanthracene	+	+	+
4-Nitroquinoline-N-oxide	+	+	+

(下線――――はS-9+)

お問い合わせは下記にお願いします。

製造・発売元

**大塚  
アセイ  
研究所**  
大塚製薬株式会社

〒771-01 徳島市川内町平石字夷野224-18 ☎0886(65)1721(代)

札幌営業所	011(271)5871(代)	大阪営業所	06(943)7733(代)
仙台営業所	022(272)4300(代)	徳島営業所	0886(65)1721(代)
東京営業所	03(342)7871(代)	広島営業所	082(294)9278(代)
名古屋営業所	052(951)1891(代)	福岡営業所	092(271)6689(代)
富山営業所	0764(91)1451(代)		

# 変異原性試験は、BMLへ。

# BML

# 株式会社相互生物医学研究所

お問い合わせ先:〒350 埼玉県川越市的場1361-1 TEL.(0492)32-0451(代表)安全性試験部 内線330

## 研究用試藥-

# 変異原性物質吸着綿 ブルーコットン〔青綿〕

ブルーコットン(青綿)は、青色色素トリスルホ銅フタロシアニンを脱脂綿に共有結合させたもので、通常約  $10\text{ }\mu\text{moles/g}$  の銅フタロシアニン核を含有しています。

ブルーコットンは変異原性物質、殊に3環以上の多環性芳香化合物を強く吸着します。このため、変異原

メーカー 略 称	商品番号	保存 方法	品 名	包 装	価 格 (¥)	メー カー 商 品 コ ー ド
C O P	CB-0200-01	(醸)	ブルーコットン(青縹)	5g	5,600	BC-001
	CB-0200-02			5g×5	26,000	BC-002

製造元 住友化学工業(株)

# 変異原性物質吸着剤 ブルーレーヨン

ブルーレーヨンはブルーコットンと同様、青色色素銅フタロシアニン誘導体を支持体に共有結合させたもので、3環以上の多環性化合物を特異的に吸着します。ブルーコットンと異なって、脱脂綿の代わりに非晶質レーヨンを使用しているため、ブルーコットンの約3倍の銅含有量を示し、変異原性物質の吸着・濃縮・分画に威力を發揮します。

メーカー 略称	商品番号	保存 方法	品 名	包 装	価 格 （￥）	メーカー 品 コード
D I W	DW-0000-05 DW-0000-25	㊣	BLUE RAYON ブルーレーヨン	5 g 5×5 g	4,800 22,000	BR-05 BR-25

製造元 ダイワエンジニアリング株式会社

フナコシのライフサイエンス研究用試薬と機器 ■  
販 売 元

フナコシ

フナコシ薬品株式会社

〒101 東京都千代田区神田駿河台2-3

サイエンス事業部／研究機材販売部 03(293)2352(代表)・学術部 03(295)5548(直通)

ISSN 0910-0865