



環境変異原研究

Environmental
Mutagen
Research
Communications

日本環境変異原学会
(EMS Japan)

第18回大会 (東京)
抄録集

日本環境変異原学会

(EMS Japan)

第18回大会

1989・東京

日本環境変異原学会第18回大会組織委員会

〒108 東京都港区白金台4-6-1
国立公衆衛生院 地域環境衛生学部
TEL.(03)441-7111(内線347)

会学員異変費取本日

(nsqsl 2M3)

会大回81第

京東・e821

会員委議聯会大回81第会学員異変費取本日

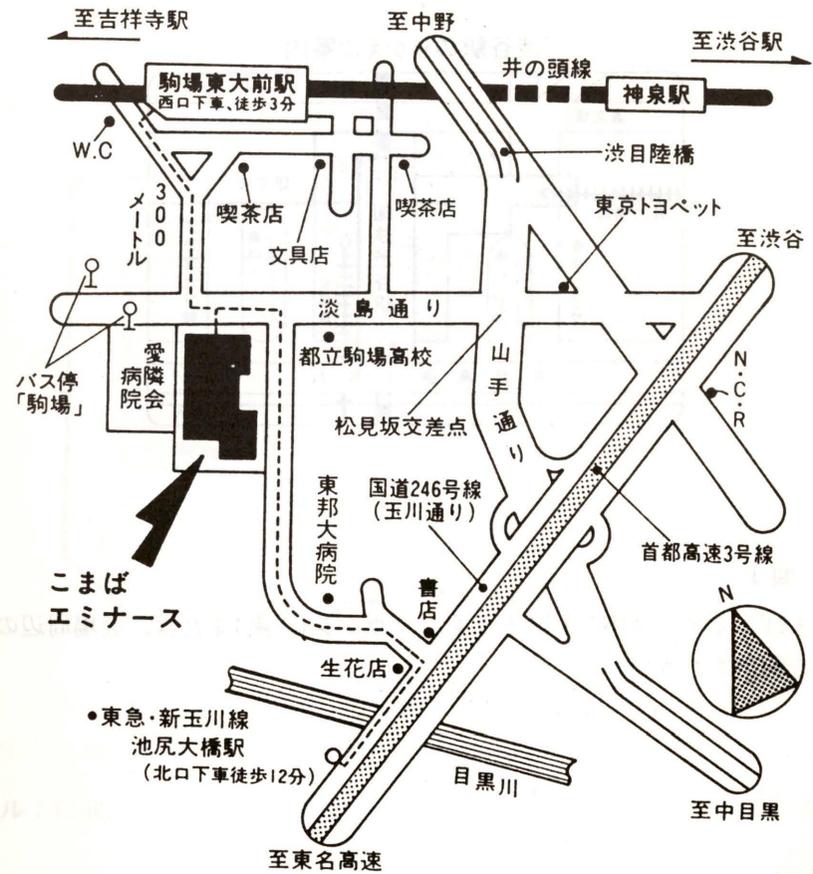
1-2-1 会白国都都京東 301千
 話学本南都都都都 話学本南公立国
 (V.C. 録内) 1111-114(10) 1111

ご 案 内

【関東西交俱評】

1. 会 期 1989年11月21日(火), 22日(水), 23日(木)
2. 会 場 こまばエミナース ホール(口演)・ダイヤモンドルーム(示説)
 〒153 東京都目黒区大橋2丁目19番5号
 TEL. 03-485-1411

【会場周辺図】



【利用交通機関】

電車

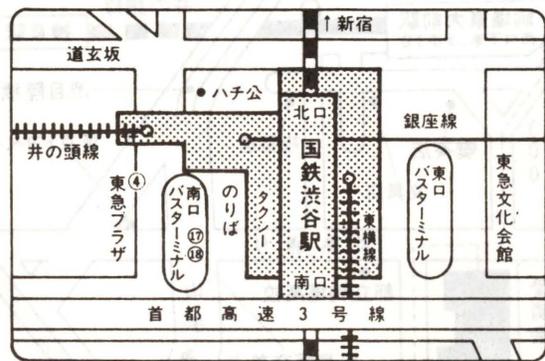
- 井の頭線「駒場東大前」下車，西口より 徒歩 3分
- 東急新玉川線「池尻大橋」下車，北口より 徒歩 12分

バス：渋谷駅南口バスターミナルより

- 小田急バス ④のりば 梅ヶ丘ゆき 「駒場」下車
- 東急バス ⑱のりば 若林ゆき //
- 東急バス ⑳のりば 世田谷区民館ゆき //

タクシー：渋谷駅南口タクシーのりばより 約2km

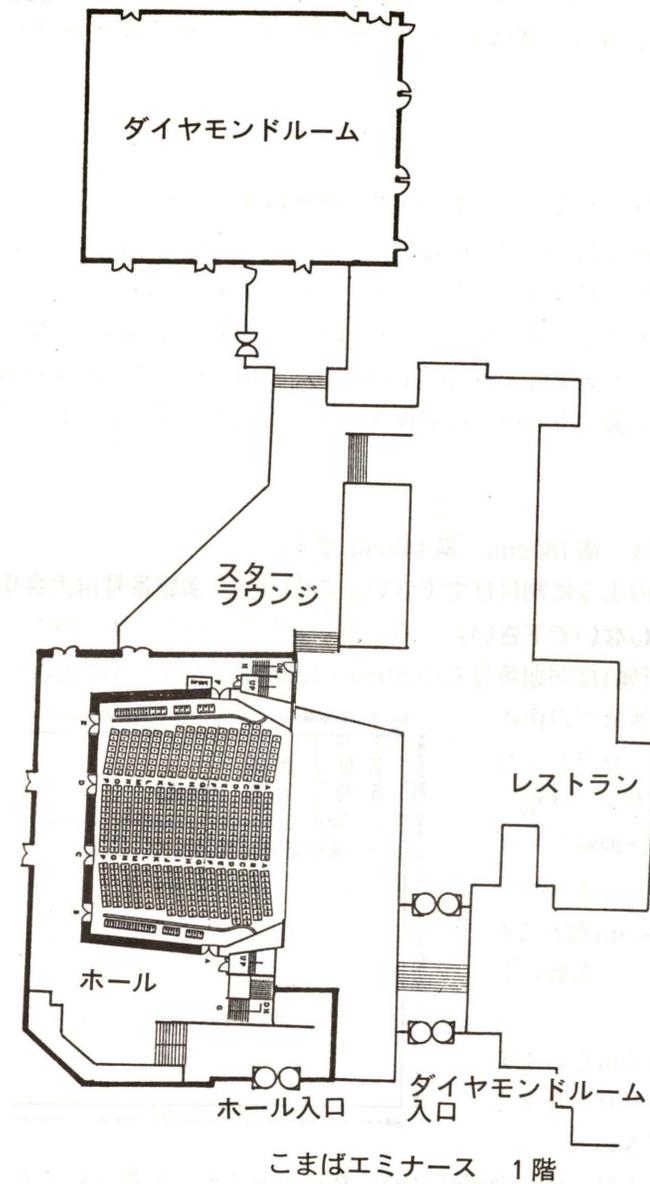
＜渋谷駅のりかえご案内＞



【昼食】

こまばエミナース内のレストラン，ラウンジ(1階)または，会場周辺の食堂をご利用ください。

【会場案内】



ホール：口演，ワークショップ，総会，受賞講演，特別講演，シンポジウム

ダイヤモンドルーム：示説，展示

3. 参加登録

受付は11月21日(火)、12時よりホール入口にて行います。

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3分です。発表時間は厳守願います。
- (2) スライドは35mm判9枚以内をお願いいたします。原則としてパナコピーはご遠慮下さい。遠くからでも良く見えるスライドをご準備下さい。
- (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枚ご用意下さい。
- (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分前までにご提出下さい。口演後スライドは同所で速やかにお受け取り下さい。

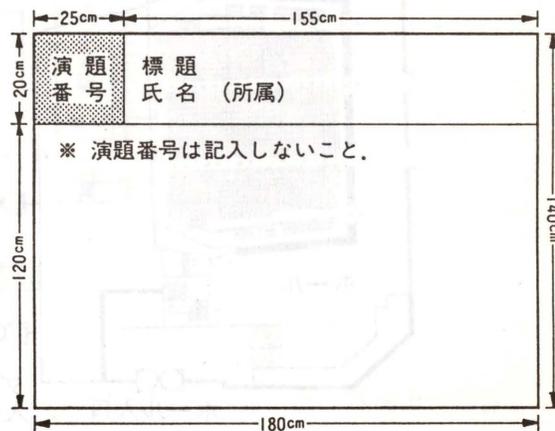
5. 示説発表

- (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。

残りのスペースはご自由にご使用下さい。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、示説会場受付でお渡しするリボンを着用して下さい。
- (5) 発表のポスターは10:30~11:30に所定の場所に各自貼り、15:00~16:00に撤去して下さい。



6. 懇親会

11月22日(水)(2日目)午後6時30分より、鳳凰の間(こまばエミナース内)で行います。

お知らせ

§ JEMS・MMS 分科会 第16回定例研究会

日時：11月21日(火) 18:30~20:30

場所：こまばエミナース ホール

〒153 東京都目黒区大橋2-19-5 TEL. 03-485-1411

—— プログラム ——

1. 小核試験における連投効果の検討

- (1) 第4回共同研究のまとめ 共同研究世話人
- (2) 国際共同研究の紹介 //
- (3) 5-FU について 大内田昭信(大鵬薬品)
渋谷 徹(食薬センター)
田村 博信(日本新薬)

2. 帰朝報告

小核試験における連投効果のシミュレーション・モデル 林 真(国立衛試)

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・変異遺伝部内

TEL. 03-700-1141 内 435

§ 第4回 Ames test 連絡会

日時：1989年11月23日(木) 18:00~20:45

場所：こまばエミナース ホール

—— プログラム ——

- 18:00 (夕食)
- 18:30 事務連絡
- 18:45 微生物変異原性試験の技術的問題点について
スピーカー(予定) 松島泰次郎(東大・医科研)他

連絡先：Ames test 連絡会事務局

〒350 埼玉県川越市の場1361-1

(株)ビー・エム・エル 安全性試験部内

TEL. 0492-32-3434 内 334

§ 第7回 ショウジョウバエ変異原研究会

日時：1989年11月23日 18:00~20:30
 場所：こまばエミナース 3階 孔雀の間

内 容

- 講演 “放射線繰り返し被曝によるマウス皮膚の高率発がんとその機構”
 田ノ岡 宏(国立がんセンター研究所, 放射線研究部)
- 第5回国際環境変異原会議報告
 — ショウジョウバエによる変異原研究の動向 —
- 翅毛スポット試験のマニュアル配布及び解説

参加申込み締切：11月4日

参加費：3,000円(弁当代1,000円を含む)

申し込み先：食品薬品安全センター・遺伝学研究室
 原 巧

TEL. 0463-82-4751 内324

FAX. 0463-82-9627

世話人：原 巧(食品薬品安全センター)

井上裕章(三菱化成)

井上達生(残留農薬研究所)

津田弘久(日本たばこ産業)

日 程 表

11月21日(火)	11月22日(水)	11月23日(木)
	9:15 口 演 <検出> 0-8~0-10 座長 清水 英佑 <試験法> 0-11~0-13 座長 菊池 康基 0-14~0-16 座長 祖父尼俊雄 <修飾> 0-17~0-19 座長 富田 勲 0-20~0-21 座長 西岡 一	9:15 口 演 <代謝> 0-22~0-23 座長 渡部 烈 0-24~0-25 座長 山添 康 <機構> 0-26~0-28 座長 田ノ岡 宏 0-29~0-31 座長 島田 弘康 0-32~0-34 座長 乾 直道
12:00 受付	12:15 昼 食	12:03 昼 食
13:25 開会挨拶	13:15 示 説 <検出> P-1~P-40 <修飾> P-41~P-49	13:15 示 説 <試験法> P-50~P-75 <代謝> P-76~P-78 <機構> P-79~P-92
13:30 口 演 <検出> 0-1~0-4 座長 常盤 寛 0-5~0-7 座長 若林 敬二	15:00 総 会 受賞講演	15:00 シンポジウム 環境変異原の検出・曝露評価の現状と問題点 司会 早津 彦哉 松下 秀鶴
15:00 ワークショップ 新しい環境変異原の研究手法 W-1~W-4 司会 松島泰次郎 江角 浩安	17:00 特別講演 Environmental Mutagens and Risk Assessment Dr. J. Lewtas 司会 大西 克成	
17:30	18:00	17:30
18:30 自由集会	18:30 懇親会(鳳凰の間)	18:00 自由集会
20:30	20:30	

11月21日(火)

口 演(ホール)

13:30 ~ 14:54

〔検 出〕

座長 常盤 寛

- 13:30 0-1 SOS chromotest による真菌代謝産物の変異原試験
○酒井正史, 阿部賢一, 杉浦義紹, 上野芳夫(東京理科大, 薬)
- 13:42 0-2 ジフェニルエーテル系除草剤の塩素処理生成物と変異原性
○神野透人¹, 松田英貴², 関田 寛¹, 安藤正典¹, 武田明治¹(¹国立衛生試験所・環境衛生化学部, ²札幌市水道局)
- 13:54 0-3 卵油に含まれるヘテロサイクリックアミン変異原物質
○加藤哲太¹, 菊川清見¹, 麻野間正晴², 坂部美雄²(¹東京薬大, ²名古屋市衛研)
- 14:06 0-4 ヘテロサイクリックアミンのヒトに対する曝露量: ヒト尿中の定量値
○牛山博文¹, 若林敬二², 長尾美奈子², 杉村 隆²(¹都衛研, ²国立がんセンター研)
- 座長 若林 敬二
- 14:18 0-5 Mutagenicity of 32 chemicals and human urine specimens in *S. typhimurium* strains with various nitroreductase or acetyltransferase activities.
Einistö, P., Nohmi, T., Watanabe, M., Ishidate, M. (National Institute of Hygienic Sciences, 1-18-1 Kami Yooga, Setagaya-ku, Tokyo)
- 14:30 0-6 ヒッコリー燻液のラット腺胃発癌におけるイニシエーター・プロモーターとしての可能性について
○大島寛史¹, 降旗千恵², 松島泰次郎², H. Bartsch¹(¹国際癌研究機関, ²東大・医科研・癌生物)

- 14:42 0-7 Correlation of chemiluminescence intensity from mutagens and their mutagenicity
Kazumi Osada,¹ Yuji Furukawa,¹ Michio Komai,¹ Kohya Hishinuma,² Mika Kimura,² Chika Saitoh,² Humio Inaba,^{2,3} and Shuichi Kimura¹
(¹Facul. of Agri. Tohoku Univ., ²Biophoton project, JRDC, ³Res. Inst. Erectr. Commun. Tohoku Univ.)

ワークショップ(ホール)

15:00 ~ 17:30

新しい環境変異原の研究手法

司会 松島 泰次郎
江角 浩 安

- W-1 PCR (Polymerase Chain Reaction) 法
江角浩安(国立がんセンター研究所 生化学部)
- W-2 遺伝子工学手法を用いた新しい試験細胞の開発とその応用
(1) 開発について
能美健彦(国立衛生試験所 変異遺伝部)
(2) 応用について
後藤純雄(国立公衆衛生院 地域環境衛生学部)
- W-3 In vitro 小核試験法
鈴木勇司(東京慈恵会医科大学 公衆衛生)
- W-4 ガス・蒸気曝露による変異原性試験法
松島泰次郎(東京大学医科学研究所 癌生物部)

11月22日(水)

口 演 (ホ ール)

9:15 ~ 12:15

〔 検 出 〕

座長 清水 英佑

9:15 0-8 マウス受精卵の発生におよぼす各種洗剤主成分の影響
○石井裕¹, 鮫島義弘², 佐治文隆², 野村大成¹(¹阪大医放基, ²阪大医産婦科)

9:27 0-9 合成洗剤アルキルベンゼンスルホン酸塩の UV 照射・オゾン併用処理による分解と生成した変異原の早期消失
○村上和也¹, 松本久男¹, 木内武美², 大西克成²(¹徳島文理大薬, ²徳島大医)

9:39 0-10 ショウジョウバエに対する近紫外光の geontoxicity とソラレンの影響
○田辺富士美, 根岸友恵, 早津彦哉(岡山大, 薬)

〔 試 験 法 〕

座長 菊池 康基

9:51 0-11 *S. typhimurium* 高感受性株の分子的基础: ニトロ還元酵素, アセチル転移酵素遺伝子の塩基配列
○渡辺雅彦, 能美健彦, 石館 基(国立衛試・変異遺伝)

10:03 0-12 変異原物質短期検出のための S9 濃度勾配代謝活性化法の開発
○佐々木澄志, 田中憲穂(食薬安全セ・細胞生物部)

10:15 0-13 乳がんイニシエーター検出のためのマウス乳腺培養細胞を用いる in vitro 小核試験
○鈴木邦夫¹, 光岡知足^{1,2}(¹理研 動物・細胞, ²東大農)

座長 祖父尼 俊雄

10:27 0-14 環境発癌物質による大腸粘膜細胞の DNA 損傷および分裂促進効果
○権 太浩, 蜂谷紀之, 滝澤行雄(秋田大・医・公衛)

10:39 0-15 Mitomycin C による in utero マウス初期胚の SCE 誘発
○三瀬敬治, 浦沢正三(札幌医科大学 衛生学講座)

10:51 0-16 ENU 誘発生殖細胞障害による F₁ での機能的障害と染色体異常
○後藤博子¹, 野村大成²(¹佐保短大, ²阪大医)

休 憩 (12 分)

〔 修 飾 〕

座長 富田 勲

11:15 0-17 ベンゾ[a]ピレンの活性化体の変異原性に対する生体関連ポルフィリン類の阻害
○有元佐賀恵, 早瀬彦哉(岡山大・薬)

11:27 0-18 クロロフィリンの Trp-P-2 に対する変異原性抑制効果の解析
○根岸友恵, 北村 歩, 糸目千穂, 小原淑子, 明石牧子, 早瀬彦哉(岡山大・薬)

11:39 0-19 インドネシア産食用豆 Djenkol 豆調理による亜硝酸捕捉剤, チオプロロリンの顕著な生成について
○津田充宥, 倉島由紀子, 江角浩安, 杉村隆(国立がんセンター研究所・生化学部)

座長 西岡 一

11:51 0-20 *umu* 試験を用いた唾液の抗変異原作用の検討: 唾液の濾過及び保存について
岡田正喜¹, 中村清一², ○三浦邦彦¹, 森本兼曇¹(¹阪大医 環境医学, ²大阪府 公衛研)

12:03 0-21 化学変異原による SOS 反応誘導に対する尿の修飾作用
○中村清一, 小田美光, 小坂 博(大阪府公衛研)

昼 食 (12:15 ~ 13:15)

示 説 (ダイヤモンドルーム)

13:15 ~ 15:00

〔検 出〕

- P-1 緑茶成分, 紅茶, および烏龍茶の TPA 阻害作用
○栗原敬子¹, 大室弘美¹, 神沼二真² (¹東京都臨床研, ²国立衛生試験所)
- P-2 天然着色料の Liquid Rec-assay
○野中美智子 (九大農)
- P-3 トウガラシと辛味成分 Capsaicin, Dihydrocapsaicin の変異原性の検討
○Usanee Vinitketkumnuen*, 笹川千晶, 松島泰次郎 (東大・医科研・癌生物)
- P-4 インドール誘導体の亜硝酸処理による変異原の生成
○笹川千晶, 松島泰次郎 (東大・医科研・癌生物)
- P-5 玄米の亜硝酸処理で生成する変異原物質
○早津聡子, 早津彦哉 (岡山大・薬)
- P-6 調理食品の突然変異原性について [X]
焼き魚の変異原性に及ぼす焼き油および調理法の影響
○村岡知子, 久岡祥子 (山陽学園短期大学・食物栄養)
- P-7 ノルハルマンの染色体異常誘発性
○佐藤英郎, 松田克子, 飯島肇, 河原隆, 高橋正宣 (株式会社エスアールエル)
- P-8 MeIQx による DNA 付加体の生成: 投与量と付加体生成量の相関性
○広瀬美砂子, 高山京子, 若林敬二, 杉村 隆, 長尾美奈子 (国立がんセンター研究所・発がん研究部)
- P-9 ヒト肝臓における Aflatoxin-DNA 付加体の生成
○高山京子¹, 若林敬二¹, C. Z. Lee,² D. P. H. Hsieh,³ 杉村 隆,¹ 長尾美奈子¹ (¹国立がんセンター研究所・発がん, ²台湾大医, ³カリフォルニア大・環境毒性)

- P-10 下水処理水中の Blue rayon 吸着変異原物質の HPLC による分離
○阪本 博, 早瀬彦哉 (岡山大・薬)
- P-11 塩素, オゾン処理生成物の umu テストによる変異原性
○小野芳朗, 宗宮 功, 河村正純 (京大工)
- P-12 Mutagenic Screening of the Active Components of Fluorescent Humic Substances in Artesian Well Water of Blackfoot Disease Endemic Area in South-western Taiwan
○洪清霖 (台北医学院・公衛), 呂鋒洲, 呂明芬 (台湾大医学院・生化), 清水英佑 (慈恵医大・公衛)
- P-13 ラット骨髄細胞によるトリハロメタンの変異原性
○藤江喜美子¹, 青木豊明² (¹大阪女子大, ²大阪府大工)
- P-14 ダイオキシンのキイロシヨウジョウバエに対する突然変異原性検出の試み
○竹森 洋¹, 古賀克己¹, 増田義人² (¹九大農, ²第一薬科大)
- P-15 大気中粒子状物質の変異原性 (第3報)
○真鍋芳樹, 朝倉正登, 後藤 敦, 実成文彦, 中嶋泰知 (香川医科大 人間環境医学)
- P-16 寒冷地における大気浮遊粉塵の変異原活性 — 季節変動及び PAH, 1-NP との関連 —
○松本 寛, 中島敏秋, 酒井茂克, 秋山雅行 (北海道公害防止研究所)
- P-17 室内及び室外汚染物質中に含まれるニトロアレーンの同定
○世良暢之, 甲斐麻美子, 堀川和美, 常盤 寛 (福岡衛公センター)
- P-18 人肺組織からのニトロアレーンの検出例
世良暢之¹, 甲斐麻美子¹, 堀川和美¹, 常盤 寛¹, 中島明雄² (¹福岡衛公センター, ²済生会下関総合病院)
- P-19 ニトロアレーンの代謝活性化
○平山晃久, 井口和彦, 渡辺徹志 (京都薬大)

- P-20 3-ニトロジベンゾフラン(3-NDBF)と3-アミノジベンゾフラン(3-ADBF)の変異原性
○宇野由利子¹, 松下秀鶴², 植弘崇嗣¹, 安原昭夫¹, 森田昌敏¹(¹国立公害研, ²国立公衆衛生院)
- P-21 カルバゾールと二酸化窒素等との反応生成物の変異原性
○久松由東, 松下秀鶴(国立公衆衛生院)
- P-22 室内空気浮遊粒子の変異原性及び多環芳香族炭化水素濃度
—川崎市及び香港の一般家庭試料の比較—
松下秀鶴¹, ○高木敬彦², 後藤純雄¹, 村田元秀², 富永祐民³, C. T. kuo⁴
(¹公衆衛生院, ²麻布大学, ³愛知県がんセンター, ⁴中国医薬学院)
- P-23 Ultramicro forward-mutation 法による個人曝露空気試料の変異原性測定
○高橋義一¹, 後藤純雄², 高木敬彦³, 石井忠浩¹, Joellen Lewtas⁴,
松下秀鶴²(¹東京理科大, ²国立公衆衛生院, ³麻布大, ⁴U. S. EPA)
- P-24 テトラニトロメタンの変異原性について
早津彦哉, ○明石牧子(岡山大, 薬)
- P-25 ニトロソプロリンの変異原性について
古川秀之, 河井一明, 服部由美, ○高瀬千晶(名城大・薬)
- P-26 N-ニトロソモルホリンの近紫外光—リン酸—処理で生成する直接変異原について
○木村幸子, 有元佐賀恵, 早津彦哉(岡山大・薬)
- P-27 Be, Ga, Sb, As 化合物の変異原性
○円藤吟史¹, 黒田孝一², 岡本章良², 兪 栄植³, 堀口俊一¹(¹阪市大医, ²阪市環境科研, ³Seoul Health Junior College)
- P-28 The Genotoxic Effect of Sodium Fluoride
○李 傑¹, 鈴木勇司², 林和夫², 清水英佑²(¹山東医大・環境医学, ²慈恵医大・公衛)

- P-29 磁場の変異原性に与える影響(第3報)
—In vitro 小核試験による場合—
○清水英佑¹, 李 傑², 鈴木勇司¹, 関 良子¹(¹慈恵医大・公衛, ²山東医科大学)
- P-30 磁場の変異原性に与える影響(第4報)
—サルモネラ菌による場合—
○関 良子¹, 鈴木勇司¹, 李 傑², 林和夫¹, 清水英佑¹(¹慈恵医大・公衛, ²山東医大)
- P-31 光力学作用による *umu* 遺伝子発現の誘発
○岩本サカエ¹, 中島克子², 米田和子², 大西武雄²(¹奈良衛研, ²奈良医大)
- P-32 核酸修飾塩基 2-Amino-*N*⁶-hydroxyadenine とその deoxyriboside, deoxyriboside 5'-phosphate の変異原性について
○土山宏高¹, 山根和子¹, 小原淑子¹, 綿矢有佑¹, 早津彦哉¹, 根津和雄², 松田 彰³, 上田 亨³(¹岡山大・薬, ²岡山大・遺伝子, ³北大・薬)
- P-33 塩基アナログ, 2-Amino-*N*⁶-hydroxyadenine 及び *N*⁴-Aminocytidine のジフテリア毒素抵抗性を指標とした CHL 細胞に対する変異原性
○青沼志珠, 広瀬美砂子, 中易教江, 若林敬二, 杉村 隆, 長尾美奈子(国立がんセンター研究所・発がん研究部)
- P-34 Phenylenediamine 類の酸化により生成する変異原物質について
○渡辺徹志, 西垣哲也, 平山晃久, 福井昭三(京都薬大)
- P-35 2つの試験系によるアルキル化剤検出能の比較
○大塚雅則, 稲井恒彦, 岡田真理, 小椋正造(財団法人化学品検査協会 日田研究所)
- P-36 オーキシンおよびサイトカイニンの変異原性について
○浅野哲秀(日東電工, 生物化学研究所)
- P-37 Polyploid 誘発剤の変異原性試験
○古川明美, 大内田昭信(大鵬薬品・安全性研)

P-38 カコジル酸のコルヒチン様活性
○黒田孝一¹, 円藤吟史², 岡本章良¹, 兪 栄植³, 堀口俊一² (阪市環境科研, ²阪市大医, ³Seoul Health Junior College)

P-39 雑種細胞 A9 (GM3552)-2 を用いた異数性誘発物質の検出
○山影康次¹, 押村光雄², 田中憲穂¹ (¹食薬安全セ・秦野研・細胞生物, ²神奈川ガンセ・研・細胞遺伝)

P-40 ショウジョウバエの変異原検出系 — 腸内細菌について —
古川秀之¹, 河井一明¹, 田辺麻美¹, 広野 巖² (¹名城大・薬, ²藤田学園保健衛生大・医)

〔修飾〕

P-41 醤油中の変異原性増強因子の研究
○東元 稔^{1,2}, 俣野景典², 木内武美¹, 大西克成¹ (¹徳島大医, ²徳島文理大薬)

P-42 煙草タール中の突然変異誘発増強および DNA 修復阻害物質の検討
○下位香代子¹, 森 直子¹, 佐々木 有², 白須泰彦², 富田 勲¹
(¹静岡県立大・薬, ²残留農薬研)

P-43 Trp-P-2(NHOH) の変異原性に対するクロロフィル及びクロロフィリン関連物質の抑制効果
○中野浩美, 根岸友恵, 早津彦哉 (岡山大・薬)

P-44 染色体異常誘発に対する茶カテキン類の in vitro, in vivo での抑制作用
○今西久子, 佐々木 有, 松元郷六, 加藤朋子, 太田敏博, 白須泰彦 (残留農薬研究所)

P-45 SOS Chromotest を用いた抗変異原物質の検出
○近澤和彦¹, 山守英朋¹, 佐藤孝彦¹, 小瀬洋喜², 鬼頭英明¹, 永瀬久光¹
(¹岐薬大・公衆衛生学教室, ²岐阜女子短大)

P-46 活性酸素消去剤, CV-3611 の抗膀胱発がんプロモーター作用
○鈴木美加¹, 曾根秀子¹, 串田弘美¹, 若林敬二¹, 長尾美奈子¹, 垣添忠生¹, 杉山 清², 杉村 隆¹ (¹国立がんセンター研究所, ²静岡県立大学)

P-47 環境中の変異原の吸着除去剤の検索
布柴達男, 村田昭子, 西岡 一 (同志社大・生化研)

P-48 ハエ DNA 修復試験を用いた Trp-P-2 の DNA 損傷性に対する食物繊維の阻害効果
○尾花裕孝¹, 中村清一¹, 梁 治子² (¹大阪府立公衛研, ²阪大医)

P-49 マウス糞便中の変異原活性の指標となる二三のパラメータにおよぼす食餌制限の影響
○菱沼宏哉¹, 細野 朗², 長田和実², 稲場文男^{1,3}, 木村修一² (¹新技術開発事業団, ²東北大・農・栄養化学, ³東北大・電通研・量子電子工学)

◇

総 会

受賞講演

(ホール)

15:00 ~ 17:00

司会 松島 泰次郎

哺乳動物試験に影響を及ぼす要因の解析とその協力研究の推進

祖父尼 俊雄 (国立衛生試験所 変異遺伝部)

ポルフィリン類による多環性化合物の変異原活性阻害の研究

有元 佐賀恵 (岡山大学 薬学部)

特別講演

(ホール)

17:00 ~ 18:00

司会 大西 克成

Environmental Mutagens and Risk Assessment

Dr. J. Lewtas (Health Effects Research Laboratory,
U. S. EPA)

懇親会

(鳳凰の間)

18:30 ~ 20:30

11月23日(木)

口演(ホール)

9:15 ~ 12:03

〔代 謝〕

座長 渡部 烈

9:15 0-22 前癌病変ラットの肝ミクロソームによる癌原性ヘテロサイクリックアミンの代謝活性化

○小沢正吾, Abu-Zeid Medhat, 村山典恵, 山添 康, 加藤隆一
(慶大医・薬理)

9:27 0-23 Enzymatic acetylation and sulfation of *N*-hydroxyarylamines in bacteria and rat livers.

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

座長 山添 康

9:39 0-24 Sulfotransferase による癌原物質 6-Hydroxymethylbenzo[*a*]pyrene の活性化と Glutathione による不活性化

○奥田晴宏, 長谷川雅俊, 渡部 烈 (東京薬大・2衛生化)

9:51 0-25 ショウジョウバエ幼虫の薬物代謝能と変異原に対する変異誘発力の関係

○梁治子,¹ 井上裕章,² 藤川和男,³ 吉川邦衛,² 野村大成¹ (¹阪大医,
²三菱化成,³武田薬品)

〔機 構〕

座長 田ノ岡 宏

10:03 0-26 大腸菌 *umuD* 蛋白質の開裂=活性化と紫外線誘発突然変異における *rec A* の第3の役割

○能美健彦¹, J. R. Battista,² L. A. Dodson,² G. C. Walker²
(¹国立衛試,²MIT)

10:15 0-27 Trp-P-2 活性中間体による DNA 組換えの誘発

○金光真一¹, 平本一幸¹, 根岸和雄², 池田日出男³, 早津彦哉¹ (¹岡山
大薬,²岡山大学遺伝子実験施設,³東大医科研)

10:27 0-28 Trp-P-2 による誘発突然変異スペクトル
諸田勝保¹, ○尾川博昭¹, 加藤安彦¹, 木村 博², 加藤武司² (¹九工大
・工, ²滋賀医大, ³阪大・医)

休 憩 (12 分)

座長 島田 弘康

10:51 0-29 染色体型異常を誘発するピリドンカルボン酸系誘導体について
○祖父尼俊雄¹, 川瀬雅子², 水沢 博¹, 石館 基¹, 池上洋二³, 小野勝
広³, 安藤俊夫³ (¹国立衛試・変異遺伝, ²㈱カイノス伊東研究所,
³明治薬大・衛生化学)

11:03 0-30 DNA 合成阻害剤の染色体異常誘発性について
○鈴木 洋, 大沢浩一, 渡部知亜紀, 山代雅子, 安井 一, 中根貞
雄 (大正製薬・総合研)

11:15 0-31 5-Fluorouracil の染色体毒性発現におよぼす各種 DNA 前駆体の同
時投与効果: マウス胎仔肝赤血球の小核を指標とする解析
○中村 稔, 藤川和男, 中島由弥, 一ツ町晋也 (武田薬品・薬剤安
全性研究所)

座長 乾 直道

11:27 0-32 DNA 修復とトランスフォーメーション誘導
○田中憲穂, 佐々木澄志, 山影康次 (食薬安全セ・秦野研・細胞生物)

11:39 0-33 ヒト・リンパ芽球様細胞のアデニン・フォスホリボシルトランスフ
ェラーゼ (APRT) 座位における自然突然変異
○巽 紘一, 立花 章, 藤森 亮, 有田 泉, 法喜ゆう子, 武部
啓 (京大・医)

11:51 0-34 鉄ニトリロ三酢酸腹腔内投与によるラット腎の8-ヒドロキシデオキ
シグアノシン (8-OH-dG) の生成
○梅村隆志, 佐井君江, 高木篤也, 長谷川隆一, 黒川雄二 (国立衛
試・毒性)

昼 食 (12:03 ~ 13:15)

示 説 (ダイヤモンドルーム)

13:15 ~ 15:00

【試 験 法】

P-50 *umu* テストにおけるニトロ還元酵素欠損株 (G46NR /pSK1002) の開
発

○安永勝昭, 井上由起, 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)

P-51 活性酸素産生に係わる変異株に *umu* 遺伝子導入した菌株を用いた高
感度変異原検出系

○小田美光 (大阪府立公衛研)

P-52 高感度 Ames テスト (micro suspension 法) による室内空気汚染評価
(第 2 報)

○玉川勝美¹, 高橋陽子¹, 関 敏彦¹, 角田 行¹, 後藤純雄², 松下秀鶴²
(¹仙台市衛生研究所, ²国立公衆衛生院)

P-53 サルモネラ菌 YG 系株と micro suspension 法との併用による室内
空気浮遊粒子の変異原性測定

○鈴木由紀子¹, 後藤純雄², 遠藤 治², 片山 敬¹, J. Lewtas³, 松下
秀鶴² (¹東京理科大, ²公衆衛生院, ³U. S. EPA)

P-54 変異原性モニタリング手法としてのスパイラルアッセイ法の検討

○後藤純雄¹, V. S. Houk², L.D. Claxton², 松下秀鶴¹ (¹国立公衆衛
生院, ²U. S. EPA)

P-55 YG 株による環境汚染物質の変異原性

○遠藤 治¹, 松下洋久², 望月正隆², 松下秀鶴¹ (¹公衆衛生院, ²共立
薬大)

- P-56 YG1021, YG1024 株に対するニトロアレーンの変異原性
○堀川和美, 世良暢之, 甲斐麻美子, 常盤 寛(福岡県衛生公害センター)
- P-57 燃焼ガス状成分の変異原性試験
○河合昭宏¹, 後藤純雄², 遠藤 治², 松下秀鶴²(¹日本自動車研究所, ²国立公衆衛生院)
- P-58 ガス状物質の培養細胞を用いる染色体異常試験
○浅倉真澄¹, 鶴井淑江¹, 山岸美紀¹, 野崎巨右¹, 松島泰次郎²(¹日本バイオアッセイ研・変異原, ²東大医科研・癌生物)
- P-59 ショウジョウバエ翅毛スポット試験による非癌原物質の検討
○蒲谷京子, 小林真理子, 井上裕章, 吉川邦衛(三菱化成総合研・第2研究部門安全性研)
- P-60 ショウジョウバエ翅毛スポットテストによる Aflatoxin 類の構造と強さの関係
○柴原俊一¹, 梁 治子², 津志本 元¹, 野村大成²(¹大塚製薬徳島研究所, ²大阪大学医学部)
- P-61 ショウジョウバエ翅毛スポットテストはマウス小核試験による癌原性予測を補完できるか
○原 巧, 渋谷 徹(食薬センター秦野研)
- P-62 *S. typhimurium* の O⁶-アセチル転移酵素およびニトロ還元酵素遺伝子の CHL 細胞への導入
○松岡厚子, 能美健彦, 渡辺雅彦, 祖父尼俊雄, 石館 基(国立衛試・変異遺伝)
- P-63 インターカレーター of Cell transformation 試験
○小木曾重文¹, 野本邦子¹, 山田 徹¹, 吉武 彬¹, 宮本純之²(¹住友化学安全性研, ²宝塚総研)
- P-64 変異原物質高感受性を示すチャイニーズ・ハムスター培養細胞株の分離, 特性確認および応用
○鈴木昭浩, 大脇美枝, 園 明(東洋醸造株式会社・リサーチセンター・安全性研究所)

- P-65 マウス腸上皮細胞の染色体観察
○大山わか, 徳光 崇(ヤクルト中研)
- P-66 骨髄赤芽球を用いた UDS 試験
○宮前陽一, 藤野安宏, 宮本厚司, 平井 収, 野口英世(藤沢薬品工業・安全研)
- P-67 小核試験の結果に与える染色液 pH の影響について
○戸田昌平¹, 鈴木勇司², 川崎一也¹, 清水英佑²(¹BML 安全性, ²慈恵医大・公衛)
- P-68 5-Fluorouracil の小核試験における連投効果
○大内田昭信¹, 古川明美¹, 梅野幸彦¹, 田村博信², 堀谷尚古³, 原 巧³, 加藤基恵³, 渋谷 徹³(¹大鵬薬品, ²日本新薬, ³食薬安全センター)
- P-69 Benzo[*a*]pyrene の小核試験における投与回数の影響
○島田弘康¹, 佐武左知子¹, 伊東 悟¹, 服部千春¹, 林 真², 石館 基²(¹第一製薬, ²国立衛試)
- P-70 小核試験における投与回数の効果 — フェナセチンの場合
○須藤鎮世¹, 三井洋司², 戸田昌平³, 関島 勝³, 川崎一也³, 安藤信明⁴, 川田敏恵⁴, 阿部俊一⁴, 岩井正和⁴, 有村博文⁴(¹伊藤ハム中研, ²通産省微工研, ³相互医学生物研, ⁴ミドリ十字安全研)
- P-71 小核試験における投与回数の影響
小核共同研究グループ(JEMS, MMS)
(世話人代表, 佐藤精一(日本たばこ))
- P-72 染色体異常, 小核, 姉妹染色分体交換(SCE)を指標にしたラットの肝臓における発癌物質の in vivo 検出法
○澤田繁樹¹, 降旗千恵², 松島泰次郎²(¹エーザイ・安全研, ²東大・医科研)
- P-73 Cyclophosphamide のマウス胎仔における小核と奇形誘発との関係
○堀谷尚古, 松田 洋, 加藤基恵, 原 巧, 渋谷 徹(食薬安全センター秦野研究所)

- P-74 マウス胎仔を用いる METS 試験 (Mouse Embryo Test System) の提案
○渋谷 徹, 堀谷尚古, 松田 洋, 畔上二郎, 原 巧, 今井 清 (食薬センター秦野研)
- P-75 抗 BrdU 抗体法によるヒトリンパ球小核試験法
○林 真,¹ H. Norppa,² J. Maki-Paakkanen,² M. Sorsa,² 祖父尼俊雄,¹ 石館 基,¹ (¹国立衛試・変異遺伝, ²Inst. Occup. Health, Helsinki)

〔代謝〕

- P-76 アルカンジアゾテートのチャイニーズハムスター V79 細胞に対する変異原性
○鶴川さと子, 望月正隆 (共立薬大)
- P-77 1-ニトロピレン投与ラット胆汁中の代謝産物特にグルタチオン抱合体とその腸管内での代謝について
○木内武美, 西藤佳子, 大西克成 (徳島大・医)
- P-78 1-Nitropyrene oxides 及びその抱合体の変異原性と吸収について
○西藤佳子, 木内武美, 大西克成 (徳島大・医)

〔機構〕

- P-79 ニトロアレーンの還元特性と変異原性について
○福原 潔,¹ 宮田直樹,¹ 松井道子,² 石館 基,² 神谷庄造,¹ (国立衛試,¹有機化学,²変異遺伝)
- P-80 直接変異原物質 *p*-ジアゾキノンによる DNA の修飾
○小島一弘, 山田哲史, 加藤哲太, 菊川清見 (東京薬大)
- P-81 加熱による変異の塩基配列特異性
根岸和雄,¹ ○原田善史,² 厚味巖一,² 松本桂子,² 別所忠昌,² 早津彦哉,² (岡山大学・遺伝子,²岡山大学・薬)
- P-82 Alkyl 化剤の突然変異誘発への *recA* 遺伝子の関与
○寺西利之, 布柴達男, 西岡 一 (同志社大, 生化研)

- P-83 *mucAB* 遺伝子の¹大腸菌・枯草菌およびマウス BALB3T3 細胞における発現
○田ノ岡 宏, 田中和彦, 戸須真理子 (国立がんセンター・放射線)
- P-84 *o*-Vanillin による適応応答の誘導阻害作用
○渡辺佳津子, 太田敏博, 渡辺三恵, 加藤朋子, 白須泰彦 (残留農薬研究所)
- P-85 バニリンの構造的染色体異常誘発に対する抑制とその機構
○佐々木有, 今西久子, 太田敏博, 白須泰彦 (残留農薬研究所)
- P-86 活性酸素系物質に対する大腸菌の交叉適応応答とその機構
○布柴達男, 橋本光正, 西岡 一 (同志社大・生化研)
- P-87 活性酸素発生系における染色体異常誘発性 VII. 変異原処理による menadione 抵抗性細胞の分離
○沢田 稔, 祖父尼俊雄, 石館 基 (国立衛試・変異遺伝)
- P-88 ケルセチンの突然変異発現機構に関する検討
○岡本章良,¹ 黒田孝一,¹ 円藤吟史,² 堀口俊一,² (¹大阪市立環境科学研究所, ²大阪市立大学医学部)
- P-89 コルヒチン耐性マウスの小核頻度に及ぼすカルシウム拮抗薬の影響について
○仁藤新治, 近藤 靖, 有行史男, 岡庭 梓 (田辺製薬・安全研)
- P-90 Erythropoiesis からみた小核試験(その6)カルシウムと小核誘発能の関係
○鈴木勇司,¹ 李 傑,¹ 清水英佑,¹ 戸田昌平,² 永江祐輔,³ (慈恵医大・公衛,²BML,³日本チバガイギー)
- P-91 Erythropoiesis から見た小核試験(その7) Estrogen の小核誘発能に与える影響
○永江祐輔, 林敏夫 (日本チバガイギー)
鈴木勇司, 清水英佑 (慈恵医大・公衛)

P-92 Benzo[a]pyrene のラットへの微量反復投与による末梢リンパ球での SCE 頻度の蓄積

○白石不二雄¹, 彼谷邦光¹, 森本兼曇² (¹国立公害研・環境生理, ²阪大医・環境)

シンポジウム

(ホール)

15:00 ~ 17:30

環境変異原の検出・曝露評価の現状と問題点

司会 早津 彦哉
松下 秀鶴

- S-1 化学計測法の現状と問題点
森田 昌敏 (国立公害研究所 計測技術部)
- S-2 水中の変異原の検出・曝露評価手法
早津 彦哉 (岡山大学 薬学部)
- S-3 空気中の変異原の曝露評価
松下 秀鶴 (国立公衆衛生院 地域環境衛生学部)
- S-4 食品中の変異原・発がん物質への曝露評価
長尾 美奈子 (国立がんセンター研究所 発がん研究部)
- S-5 総合討論

PhIP:

2429 947x-2

PhIP 70 ppb

MeIEx 6 ppb

20 μg total HA/day

ワークショップ

受賞講演

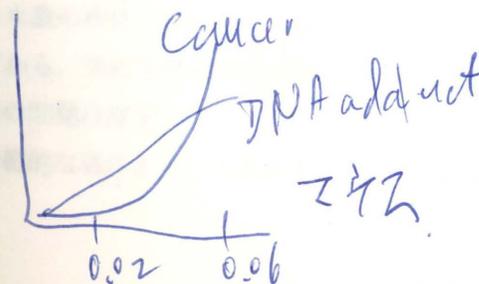
特別講演

シンポジウム

Human: Stage I tumor^(RB) & lints

MeIEx feeding 0.4 ppm 12 wks:

DNA adduct detectable



多数の lint が発がんには必要

ワークショップ

新しい環境変異原の研究手法

司会 松島泰次郎

江角 浩安

W-1 ポリメラーゼチェーンリアクション(PCR)法

江角 浩安(国立がんセンター研究所 生化学部)

ここ数年間の分子生物学的手法の最大の進歩は、間違いなくPCR法の開発である。殊に、耐熱性のDNAポリメラーゼ(Taqポリメラーゼ)が導入されて以降の技術的改良, その適応範囲の拡大は目を眩るものがある。その原理は、目的の塩基配列に対し2つのプライマーを用意し、試験管内での酵素的DNA合成を繰り返す事であり、これにより目的のものだけを増幅し、解析可能な量迄増やすものである。一方で、合成短鎖DNA(プライマー)が簡単に手に入れ時代となったため、操作の簡単である事も手伝い、適応範囲は目覚まして拡大している。

現在迄に、主にPCR法が使われてその有効性が証明されているのは、(1)ヒトの遺伝病の診断、(2)がん細胞でのがん遺伝子の変化、(3)ウイルス疾患での感染の証明、(4)試験管内での遺伝子操作の一部、(5)特定遺伝子の発現の証明等である。その他、従来の遺伝子クローニング法を用いたのでは、とても解析出来ない程の少量あるいは多数検体を用いた、分子遺伝学的研究、進化の研究、発生分化の研究にも適応されて来ている。

遺伝子の本体が、多くの場合DNAである事を考えれば、環境変異原の研究にはPCR法が非常に適している様に思われる。殊に、原理的には、一分子のDNA(一本鎖)が存在すれば解析が可能であるので、従来では考えられなかった数の検体が手に入る。精子一匹から、解析可能な量のDNAが手に入るのだから、突然変異率などの測定には最も向いている様に思われる。しかし、最大の問題は酵素のフィデリティーが低い事、いかにして変異を見出すかという技術的な処にある。本発表では、これらの研究に役立ち得る方法の紹介をする。

ワークショップ

W-2 遺伝子工学的手法を用いた新しい試験細胞の開発とその応用

能美 健彦, 渡辺 雅彦, Pirkko Einistö, 松岡 厚子
祖父尼 俊雄, 石館 基 (国立衛生試験所 変異遺伝部)

1) 開発について

ニトロ還元酵素 (NRase), *o*-アセチル転移酵素 (OATase) は芳香族アミン, ニトロアレーンの *Salmonella typhimurium* 細胞内における代謝活性化に関与する酵素である。我々は, *S. typhimurium* TA1538 株から NRase, OATase の遺伝子をクローン化し〔1〕, それぞれの遺伝子を持つマルチコピープラスミドを TA100, TA98 株へ導入し, 芳香族アミン, ニトロアレーンに対し高い感受性を示す指標菌株を作製した。

NRase をコードしたプラスミドを持つ菌株 (YG1021, YG1026) は, もとの株より約 50 倍高い NRase 活性を示し, 2-ニトロフルオレン (2-NF), 1-ニトロピレン (1-NP), 2-ニトロナフタレンに対し, TA100, TA98 株よりも 4 から 60 倍高い感受性を示した〔2〕。OATase をコードしたプラスミドを持つ菌株 (YG1024, YG1029) は, 約 100 倍高い OATase 活性を示し, 2-NF, 1-NP, 1,8-ジニトロピレンに対し, 4 から 40 倍高い感受性を示した。またこれらの菌株は芳香族アミンである Glu-P-1, 2-アミノフルオレン, 並びにその N-水酸化体に対し, 8 から 38 倍高い感受性を示した。これら高感受性株は, complex mixture (大気, 水, 食品, 尿, 代謝産物) 中に含まれる微量の芳香族アミン, ニトロアレーンの変異原性を検出する際に極めて有用である。

NRase, OATase 遺伝子の分析結果, ならびにこれら遺伝子を培養細胞 (CHL) 中で発現させる試みについてもあわせて報告する。

〔1〕 Watanabe, M., Nohmi, T. and Ishidate, M. Jr., *Biochem.*

Biophys. Res. Commun., 147, 974~979 (1987).

〔2〕 Watanabe, M., Ishidate, M. Jr., and Nohmi, T., *Mutat. Res.*,

216, 211~220 (1989).

ワークショップ

W-2 遺伝子工学的手法を用いた新しい試験細胞の開発とその応用

後藤 純雄 (国立公衆衛生院 地域環境衛生学部)

2) 応用について

芳香族ニトロ化合物やアミノ化合物は, それぞれ環境中の重要ながん・変異原物質群の一つである。芳香族ニトロ化合物, 特にニトロアレーンはディーゼル排出ガス問題との関連で強い注目を集めており, 芳香族アミノ化合物の中にも調理に伴って発生するヘテロサイクリックアミンなどのがん・変異原物質や労働衛生上問題となる化合物が種々存在する。これらの物質の環境中への放出量は化石燃料の使用量や化学工業等の発達に伴って年々増大しているものと考えられることから, それらの物質の種類や存在量及び人体曝露量などに関する実態解明が強く望まれている。環境中のがん・変異原物質による汚染実態は Ames 法などにより徐々に明らかとなりつつあるが, 感度上の制約により室内空気試料など極微量しか得られない環境試料の変異原性の実態は必ずしも明らかではない。

今回は, 変異原性試験法の高感度化に関する研究の一環として, ニトロ還元酵素及びアセチル転移酵素の高生産性菌株 (*S. typhimurium* YG1024, YG1029 他) の応用について検討を加えた。その結果, ニトロアレーン類及び大気浮遊粉じん抽出物などの高感度変異原性測定に有効であることや, Kado らの microsuspension 法 (*Mut. Res.* 121, 25, 1983) との併用で更に高感度化が可能であること, 及び Houk らの spiral assay 法 (*Mut. Res.* 223, 49, 1989) にも適用可能であり高感度自動化手法として有望であることなどが認められたので報告する。

ワークショップ

W-3 In vitro 小核試験

鈴木 勇司(東京慈恵会医科大学 公衆衛生)

小核試験とは、細胞に化学物質や放射線が作用して無動原体染色体断片、無動原体染色体、遅滞染色体が形成され、これが小核として観察されることを利用した変異原物質短期検索法である。小核試験は、SchmidやHeddleによって骨髓赤芽球を用いた in vivo 試験として確立され、簡便で、経済的であるため発癌物質の in vivo 短期検索法として、現在広く用いられている試験法の一つである。しかし、変異原物質またはその代謝産物の宿主に対する毒性や骨髓到達性の問題などがあり、変異原物質検出感度が必ずしも高いとは言えない。これらの問題点を避けるために、培養細胞に被験物質を直接曝露させる in vitro 小核試験が行われるようになった。大別して、継代細胞の CHO, CHL, Walker-256 carcinoma, McCoy cell, mouse 3T3, rat kangaroo ovary tumor を用いる方法と、ヒトや動物のリンパ球や赤芽球を用いる方法がある。我々の教室では、赤芽球と CHL 細胞を用いて in vitro 小核試験を行っている。赤芽球を用いた in vitro と in vivo 小核試験の変異原物質検出感度を比較すると、用いた 35 物質の結果では in vitro の方が優れていた。CHL 細胞を用いた小核試験と染色体構造異常試験(石館らのデータ)を比較すると結果の一致率が高く、両方法ともに変異原物質検出感度も高かった。また、赤芽球および CHL を用いた小核試験の変異原物質検出感度は、Ames test と同等であった。In vitro 小核試験の有利な点は、簡便で短期間で結果が得られ、検出感度が高く、被験物質が微量でも試験ができる、リンパ球や赤芽球を用いた試験系では in vivo 試験系を併用することで mechanism の解明が可能となる等である。欠点として、赤芽球以外の試験系では観察時に主核と小核が重なるような場合に結果に影響が出ること、in vitro の結果をそのまま in vivo へ外挿することの問題点があることなどである。いずれにせよ、短期試験法としての有利な点が多いことから今後の発展が期待できる。

ワークショップ

W-4 ガス・蒸気曝露による変異原性試験法

松島 泰次郎(東京大学医科学研究所 癌生物部)

ガス状物質あるいは揮発性液体を、微生物テスト菌株にガス・蒸気で曝露させて変異原性を調べることは、デシケーター等の密閉容器を用いて実施されて来た。通常の Plate 法では変異原性が陰性の物質が、蒸気曝露では変異原性が陽性になる場合がある。沸点が試験実施温度の 37℃ よりも非常に高い場合でも蒸気曝露で陽性になっている場合がある。試験方法を選択するに当たって、沸点だけでなく、水への溶解度あるいは分配係数を考慮に入れる必要がある。Plate 法(あるいは Preincubation 法)で陰性の場合に、前記の点を考慮して蒸気曝露を考える必要がある。特にハロゲン含有化合物の場合には、液状曝露では毒性が発現して変異原性がみられないのが、蒸気曝露では毒性発現が低く変異原性が検出できる場合もある。

爆発性のガス・蒸気の場合には、デシケーターの様な容器は爆発事故の時の危険度が大きい。環境測定用の市販のガス捕集用プラスチック袋であるテドラーバッグを用いる方法が工夫されている。爆発時の危険度は低く、ガス交換、曝露前後の濃度測定のためのガス捕集、液体を揮発させ得る濃度の問題等でテドラーバッグ法は優れている。

培養細胞を用いる試験でも、培養角瓶の一つの面に細胞を単層培養した容器を回転培養して、1回転の 1/4 は培地に、3/4 は試験するガス・蒸気に曝露する方法が考案されている。

試験方法を選択する基礎になる被験物質の物性と変異原性検出との関係、および微生物や培養細胞にガス・蒸気を曝露する方法について紹介する。

受賞講演

哺乳動物試験に影響を及ぼす要因の解析とその協力研究の推進

祖父尼 俊雄 (国立衛生試験所 変異遺伝部)

変異原性試験で検討された化合物は膨大な数にのぼるが、同一化合物でありながら異なる結果が報告されているものがある。従って試験結果に影響を与える要因の解析が重要となるが、未だ十分に吟味されていない。特に、動物個体を用いる試験系では、研究者個人での検討は困難であり、多数の研究者による協力研究が必要である。そのため、哺乳動物試験 (MMS) 分科会において、マウスを用いる小核試験を中心に協力研究を行った。

第1回目の小核共同研究 (1984~1985年) は性差について、20機関が参加し、20種の化合物を用いて行った¹⁾。いずれの化合物も雌雄共に小核の誘発が認められたが、4種は明らかに雄の方で誘発頻度が高く、1種のみが雌の方で高かった。他の化合物は雌雄共に同程度あるいは雄の方が幾分高い傾向にあった。第2回目 (1986年) は系統差について、24機関が参加し、4系統のマウスを用いて行った²⁾。いずれの化合物も4系統で小核を誘発したが、MS/Aeが最も誘発性が著しく、BDF₁が中程度で、ddYとCD-1が比較的lowかった。第3回目 (1987~1988年) は投与経路差について、34機関が参加し、17化合物を用いて行った³⁾。多くの化合物は腹腔内投与 (i. p.) と強制経口投与 (p. o.) で共に陽性結果を示したが、K₂CrO₄ は i. p. で陽性であるが p. o. で陰性結果を、benzene は i. p. では弱い p. o. で強い小核誘発性を示した。投与量を比較すると、i. p. の場合により低い用量で小核が誘発されるが、LD₅₀ に対する割合に換算すると、i. p. と p. o. との間の差異が少なくなった。第4回目 (1989年) は投与回数について、33機関が参加し、11種の化合物を用いて、1回、2回、4回投与 (i. p.) で比較した⁴⁾。3種の化合物では単回投与よりも連投の方

が明らかに小核誘発性が高く、5種の化合物でもその傾向がみられたが、3種の化合物では明らかな差異はみられなかった。一般に、2回投与後24時間の標本作製が小核の検出に有効であることが示唆された。これらの共同研究の結果は小核試験のプロトコールの標準化のための重要なデータとなっており、国際的にも大いに注目されている。

- 1) *Mutat. Res.*, 172, 151~163(1986).
- 2) *Mutat. Res.*, 204, 307~316(1988).
- 3) *Mutat. Res.*, 223, 329~414(1989).
- 4) *Mutat. Res.*, (submitted).

受賞講演

ポルフィリン類による多環性化合物の 変異原活性阻害の研究

有元 佐賀恵 (岡山大学 薬学部)

環境中に存在する発癌物質や変異原物質に生体が曝露される時、生体側において防御機構が備わっている可能性がある。そこで、主に生体関連成分に焦点を当てて、*in vitro*におけるスクリーニングを行ない、生体内外における変異原修飾因子の検索を行なった。さらに、見出された物質の修飾作用のメカニズムを追及した。

本研究により、血色素成分であるヘミンおよび関連ポルフィリン類が、Trp-P-2などの食品加熱変異原の活性を阻害することを明らかにした。その阻害メカニズムとして、ヘミンがTrp-P-2の代謝活性化を妨げることを見出した。また、ヘミンがTrp-P-2(NHOH)に対して、さらには他のヘテロサイクリックアミンの代謝活性化直接変異原に対して、それらの変異原活性を妨げることを明らかにし、その機構の研究をした。代表としてTrp-P-2(NHOH)を取り上げ、詳細に調べたところ、ヘミンはTrp-P-2(NHOH)の分解を強く促進することを見出した。さらに、ヘミンと関連ポルフィリン類が、Trp-P-2(NHOH)との間に分子間相互作用のあること、これが阻害作用に役だっていると思われることを示した。一方、ヘミンはbenzo(a)pyreneなどの多環芳香族炭化水素に対しても変異原性阻害作用のあることがわかり、そのメカニズムとして、benzo(a)pyrene diol-epoxideの変異原性に対して活性阻害することを見出した。

さらに、ヘムタンパクであるミオグロビンとヘモグロビンがヘテロサイクリックアミンの代謝活性化体の変異原性を阻害すること、Trp-P-2(NHOH)の酸化的分解を促進することを見出した。

以上により、生体のポルフィリンとそれを含むタンパクが、種々の多環性化合物の変異原活性を阻害する作用を持つことが明らかとなった。また、その阻害が、ポルフィリンとこれら変異原との分子間相互作用によることが示唆された。

1. Arimoto, S. et al.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **92**, 662~668(1980).
2. Arimoto, S. et al.: *Cancer Letters*, **11**, 29~33(1980).
3. Arimoto, S. et al.: *Mutation Res.*, **192**, 253~258(1987).
4. Arimoto, S. and Hayatsu, H.: *Mutation Res.*, **213**, 217~226(1989).

特別講演

Environmental Mutagens and Risk Assessment

Joellen Lewtas

Health Effects Research Laboratory, U.S. Environmental Protection Agency,
Research Triangle Park, North Carolina 27711, U.S.A.

Recognition that most human exposures to environmental chemicals occur as complex mixtures has stimulated research and the development of new methods to assess exposure, dosimetry, and genotoxic effects. Risk assessment of environmental mixtures relies on data for either individual chemicals present in the mixture, the whole mixture or fractions thereof. In the case of very complex mixtures, it is nearly impossible to quantitate all of the constituent chemicals and their human exposure, dose, and effects for risk assessment. New genetic and molecular methods are being applied to each aspect of research and assessment of cancer risk from complex mixtures. Short-term genetic bioassay methods utilizing new engineered bacterial strains are being used to assess total human exposure to mutagens in the environment. New DNA adduct dosimetry methods are being applied to assess human exposure to complex mixtures and to *in vivo* and *in vitro* studies. Finally, new advances in sequencing the genetic mutations induced by environmental mutagens will improve our understanding of the relationship between DNA adducts, DNA damage and repair, mutation induction, and tumor initiation. Combustion emissions represent one of the best studied complex environmental exposures in humans, animals, and short-term genetic bioassays. We have developed a comparative potency method for cancer risk assessment of combustion and related emissions using human lung cancer data for populations exposed to these mixtures. The constant relative potency hypothesis invoked in this method is being tested using new human, animal, and short-term bioassay data. We are now applying new molecular and genetic methods to studies of combustion emissions both indoors and outdoors. Human exposure to combustion emissions and potential cancer risk in China and the U.S. will be used to illustrate the new methodologies and integrated multidisciplinary strategies being used in these studies.

This is an abstract of a proposed presentation and does not necessarily reflect EPA policy.

シンポジウム

環境変異原の検出・曝露評価の現状と問題点

司会 早津 彦哉

松下 秀鶴

S-1 化学計測法の現状と問題点

森田 昌敏 (国立公害研究所 計測技術部)

過去20年間にわたって化学計測法は飛躍的な進歩をとげてきた。環境変異原の検出にとって特に重要な感度と選択性において著しい。揮発性を有する物質については、各種の検出器をもつガスクロマトグラフ質量分析(GC/MS)により分析される。GC/MSの検出下限はSIM検出によりpgを切り、fgオーダーに近づいている。またキャピラリーカラムの発達により分離能が向上し、多成分の同時分析が容易になっている。不揮発性物質、極性物質、熱に不安定な物質、高分子量物質については、高速液体クロマトグラフ(HPLC)を分離手段とする分析法を用いることになる。蛍光を有する物質の分析は、感度面でも選択性の面でも有利であり、レーザーを励起源とすることによりfgオーダーの分析が可能となっている。LC/MSは徐々に実用化に近づきつつあるが、感度面ではngオーダーであり、またイオン化がマトリックスの影響を受けやすい。しかし分子種の同定が可能であることから変異原物質で修飾を受けた塩基の同定に将来利用できるかも知れない。NMRは600MHzのものが市販されるようになり、感度が向上してきた。また超低温の分光学の応用が可能となりつつある。一方、モニタリングという点に関しては、安価で操作性のよい機器の配置が必要である。分析には人の技術に依存する部分もあり、分析精度の管理が特に重要である。

L. C. Buffalo
L. Erie 30 l → B(a)P 抽出

シンポジウム

S-2 水中の変異原の検出・曝露評価手法

早津 彦哉（岡山大学 薬学部）

人間が曝露される可能性のある変異原の一群に、環境の水中のそれがある。とくに飲料水は直接に人間が摂取するので、変異原の存在の有無は強い関心事の一つである。また、飲料水の水源としての河川水、地下水、さらには雨水などについても、変異原物質の存在が問題となる。人間が直接とり入れないでも、河川や海水の中に住んでいる魚や貝類などを仲介として、水汚染に由来する変異原物質が人間に侵入することもあり得る。

これら、水系の中の変異原性または発がん性物質として問題となるものには、(i)ベンゾ〔a〕ピレンに代表される多環性芳香族化合物、(ii)飲料水を製造する時、原水の塩素処理をするが、それにともなって有機物質から生成する (a)クロロホルムなどのハロゲン化炭化水素類、(b)最近その強い変異原性ゆえに問題となっている、塩素化フラン化合物MX、(iii)特定の河川の水に見出されている構造未知の変異原などがある。

私は上記(i)~(iii)について、変異原性に焦点をしばってのべたい。また、河川水中の変異原物質を検出するためにわれわれが開発した、ブルーレーヨン法について説明し、それをを用いて得た京都の桂川での調査結果、ならびにクリーブランドのエリー湖での研究結果について報告する。

シンポジウム

S-3 空気中の変異原への曝露評価

松下 秀鶴（国立公衆衛生院 地域環境衛生学部）

産業の急速な発展、生活様式の多様化などに伴って、環境空気中にはおびただしい種類のがん・変異原物質がそれぞれ微量ずつ含まれるようになり、これら化学物質の体内取り込みが健康にどのような影響を及ぼすかが問題となっている。

空気中の変異原の検出は、各種高感度化学分析法の発達や、変異原性試験法と化学分析法とを組み合わせた手法(bioassay directed chemical analysis)の普及により急速に進み、現在では、アルデヒド、ニトロソアミン、有機ハロゲン化合物、多環芳香族炭化水素、ニトロアレーン、ヘテロサイクリックアミンなど、多種多様な変異原が検出されるに至っている。

一方、空気中の変異原への曝露評価はリスクアセスメントの一環として極めて重要であるが、その知見は変異原検出に関する知見と較べてかなり少ない現状にある。これは、曝露評価のためには、多大の労力を要すること、曝露評価に適した分析法や変異原性試験法が十分に開発されているとはいえないこと、調査システムが整備されていないことなどによると思われる。

空気中の変異原への曝露評価は、従来、大気中の変異原の測定からなされてきた。しかし、曝露評価の重要性が認識されるにつれて、室内空気や個人サンプラー試料を用いる、より精度の高い曝露評価手法が開発され、実態調査に適用されつつある。また、ヘモグロビン付加体などを指標とする曝露評価の試みもなされつつある。そこでここでは、空気中の変異原への曝露評価に関する化学的、生物学的諸手法の現状と問題点や若干の調査事例を述べると共に、空気、水、食品を介した変異原への総合被曝に関する若干の知見について述べることにする。

シンポジウム

S-4 食品中の変異原・発がん物質への曝露評価

（報告者）長尾 美奈子（国立がんセンター研究所 発がん研究部）

日常食品中に変異原・がん原物質が存在することが明らかになってから、かなりの年月が経つ。しかし食品中がん原物質に対するヒト曝露量については、リスク評価に役立つような解析はまだ行われていない。

我々は日常食品中の種々の発がん物質のうち特にヘテロサイクリックアミン(HA)に注目し、ヒト曝露量を明らかにしたいと考えている。HAはその化合物の性質、存在様式から考え、ヒト発がんではイニシエーターとして働いている可能性が強い。そこで、マーカーとしてHA-DNA 付加物を選んでみることにした。将来のリスク評価に耐えうる曝露量の解析結果を得るにあたって、先ずヒトが実際に曝露されている量に近似的な量のHAを実験動物に与えた場合のHA-DNA 付加物の生成様式を明らかにする必要があると考える。

DNA-付加物と発がん量との関係は化合物に特異的なのか、臓器特異的なのか、DNA・ヒット量-発がんとの関係にプロモーターはどのように関与しているのかという基本的な問題を先ず解決する必要があると考える。

口 演

O-1

SOS chromotestによる
真菌代謝産物の変異原試験

○酒井正史、阿部賢一、杉浦義紹、上野芳夫（東京理科大、薬）

【目的】*E. coli* P037株によるSOS chromotestを用いて、遺伝毒性を有する真菌代謝産物の探索を行なった。

【方法】理大保存*Aspergillus*属菌株（完全世代*Emericella*属等を含む）70株、*Penicillium*属菌株130株を2gの米培地で、25°C、3週間、試験管培養し、そのメタノール抽出物を検体とした。SOS反応は、誘導ラット肝S-9分画の存在下、非存在下でマイクロタイタープレート上で行い、OD₄₉₅で測定した。

【結果】検体無添加に比べて、2倍以上のOD値増加を陽性とした際、*Penicillium*属菌株はすべて陰性であった。

*Aspergillus*属70株中10株はS-9非存在下で、4株はS-9存在下で陽性であった。そのうち、*Emericella*属は10株中9株が陽性で、遺伝毒性を有する代謝産物の産生率が高い。*E. nidulans*等では、その活性成分として、ステリグマトシスチン等が想定される。なお、*E. dentata*などについては、新規作用物質の存在が疑われ、目下、大量培養し検討中である。

O-2

ジフェニルエーテル系除草剤の
塩素処理生成物と変異原性

○神野透人¹、松田英貴²、関田 寛¹、安藤正典¹、武田明治¹（¹国立衛生試験所・環境衛生化学部、²札幌市水道局）

ジフェニルエーテル系除草剤は水田除草剤として広く用いられており、河川水から検出されることも多数報告されている。現在わが国で使用されているジフェニルエーテル系除草剤Chlornitrofen(CNP)、Chlormethoxyinil(X-52)及びBifenoxの変異原性については、母骨格である4-Nitrodiphenyl Etherに変異原性が認められているにも関わらず、X-52に弱い変異原性が報告されているに過ぎない。演者らはニトロ還元酵素活性が高く芳香族ニトロ化合物に対して高い感受性を示すYG1021及びYG1026を用いてこれらの除草剤のAmes試験による変異原性を検討するとともに、塩素処理時の挙動について検討を行った。

TA98及びTA100を用いた変異原性試験ではX-52に弱い変異原性(-S9、TA100)が認められたが、CNP及びBifenoxはいずれの菌株においてもS9の有無にかかわらず陰性であった。しかし、YG1021及びYG1026を用いた場合X-52、CNPで明かな変異原性(-S9、YG1021及びYG1026)が認められた。

一方塩素処理時の挙動を検討したところ、遊離塩素濃度100ppm、pH 5、20°C、反応時間24時間の条件下でX-52のみが塩素と反応し、約40%が減少した。生成物をGC-MSを用いて分析した結果、主生成物は塩素置換体であることが明かとなった。また、塩素処理混合物についてAmes試験を行ったところ、X-52と比較して変異原性が增强されていることが明かとなった。

O-3 卵油に含まれるヘテロサイクリックアミン変異原物質

○加藤哲太¹、菊川清見¹、麻野間正晴²、坂部美雄² (¹東京薬大、²名古屋市衛研)

健康食品として用いられる卵油は、卵黄を加熱処理して得られ、強い変異原活性を持つことが報告されている。今回、市販の卵油を用い変異原物質の本体について検討を行なったので報告する。

市販の卵油はS. typhimurium TA89 +S9 mixで15000-20000 His⁺ revertants/gの変異原活性を示した。これをクロロホルムに溶解し酸抽出、アルカリ性クロロホルム抽出を行なった結果、得られた塩基性フラクションに、58%の変異原活性が認められた。水に溶解し透析とブルーコットン吸着を行なった(回収率:63%)後 Sephadex LH20カラムを用いて変異原物質を精製した(回収率:61%)。さらに逆相カラムを用いたHPLCを行い、主変異原フラクションを得た(回収率:40%)。この活性フラクションは、3回のHPLCによって7つの活性フラクション、Ia-2, Ib-2₁, Ib-2₂, Ic-2, IIa-1, IIIおよびIVに分離できた。Ia-2は cochromatographyおよびUV吸収スペクトルから IQ、Ic-2は cochromatographyおよび蛍光スペクトルから Glu-P-1と同定された。Ib-2₂は retention timeからMeIQと示唆された。Ib-2₁、IIa-1、IIIおよびIVは12種の既知ヘテロサイクリックアミン変異原物質とは異なり、未知変異原物質であることが示唆された。IQおよびGlu-P-1の含量は1.1ngおよび4.8ng/gであったが、精製中の回収率を考慮すると少なくともこの5倍量存在すると考えられる。

IQ, Glu-P-1

O-4 ヘテロサイクリックアミンのヒトに対する曝露量:ヒト尿中の定量値

○牛山博文¹、若林敬二²、長尾美奈子²、杉村 隆² (¹都衛研、²国立がんセ・研)

変異原性、がん原性を有するヘテロサイクリックアミンのヒトに対する曝露量を推定する目的で, Trp-P-1, Trp-P-2, PhIP及びMeIQxの尿中排泄量を測定した。

尿は健康な5人の男子(33~80歳)及び5人の女子(13~67歳)から採取し凍結保存した。尿中のヘテロサイクリックアミンは、ブルーコットン、次いで陽イオン交換樹脂カラムでクリーンアップ後、蛍光検出器及び電気化学検出器を用いたHPLCで分析した。

今回対象としたヘテロサイクリックアミンは、すべての試料から検出された。同時に行った添加試験より得られた回収率で補正すると、Trp-P-1は0.04~1.43ng/24時間尿、Trp-P-2は0.03~0.68ng/24時間尿、PhIPは0.12~1.97ng/24時間尿、MeIQxは11.0~47.1ng/24時間尿であった。

以上のようにヒトは常に低濃度のがん原性ヘテロサイクリックアミンに曝露されていることがわかった。co-mutagenであるハルマン及びノルハルマンについても報告する。

MeIQx: 47 ng/24 hr 20g 糞
PhIP } Carcinogens
Harman
MeIQx 47 ng/24 hr 20g 糞
尿中の量から推定

O-5 Mutagenicity of 32 chemicals and human urine specimens in S. typhimurium strains with various nitroreductase or acetyltransferase activities

Einistö, P., Nohmi, T., Watanabe, M., Ishidate, M. (National Institute of Hygienic Sciences, 1-18-1 Kami Yooga, Setagaya-ku, Tokyo)

32 known bacterial mutagens, including nitroaromatics, aromatic amines, N-hydroxyaromatics etc., were tested in Ames test using preincubation with or without S-9-mix with S. typhimurium strains TA98 or TA100 (conventional strains), TA98NR or TA100NR (nitroreductase deficient), TA98/DNP or TA100/DNP (acetyltransferase deficient), YG1021 or YG1026 (high nitroreductase activity) and YG1024 or YG1029 (high acetyltransferase activity). The metabolic capacity of the indicator bacteria strain had in most cases a significant role in detecting mutagenicity. Urine specimens were collected from smokers and nonsmokers, concentrated and analyzed with TA98, YG1021 and YG1024 with S-9-mix. The high enzyme activity of the indicator strain also seems to increase the sensitivity in detecting urine mutagenicity.

¹Ref.: Watanabe et al: Biochem Biophys Res Comm 147(3): 974-979, 1987., Watanabe et al: Mutation Res (in press).

O-6 ヒッコリー燻液のラット腺胃発癌におけるイニシエーター・プロモーターとしての可能性について

○大島寛史¹、降旗千恵²、松島泰次郎²、H. BARTSCH¹ (¹国際癌研究機関、²東大・医科研・癌生物)

【目的】 燻製食品の摂取と発癌の関連が疫学調査により示唆されている。そこで、降旗、松島らのin vivo 短期評価法を用いて市販のヒッコリー燻液の腺胃発癌物質としての可能性について検討した。また、燻液を亜硝酸と反応させると直接型の変異原を生成するので、亜硝酸と燻液を同時投与した際の影響についても試験した。

【結果】 燻液をF344ラットの胃内に投与した場合、胃幽門腺部の粘膜細胞のDNA鎖切断を生じることが、アルカリ溶出法により認められた。また、オルニチン脱炭酸酵素(ODC)活性(16時間後、270倍)と複製DNA合成(16時間後、47倍)が著しく誘導された。一方、亜硝酸(25-100 μmol/ラット)と燻液の同時投与は、不定期DNA合成を明らかに誘導したが、DNA鎖切断およびODC活性と複製DNA合成の誘導の程度は、燻液を単独に投与した場合に比べて、減少した。

【結論】 ヒッコリー燻液にはラットの腺胃発癌をイニシエーターあるいはプロモーターする物質と、亜硝酸と反応した後にイニシエーターとして作用する物質を含むことを示唆している。

0-7 Correlation of chemiluminescence intensity from mutagens and their mutagenicity

Kazumi Osada¹, Yuji Furukawa¹, Michio Komai¹, Kohya Hishinuma², Mika Kimura², Chika Saitoh², Humio Inaba^{2,3} and Shuichi Kimura¹
(¹Facul. of Agri. Tohoku Univ. ²Biophoton project, JRDC ³Res. Inst. Electr. Commun. Tohoku Univ.)

We have previously reported that benzo(a)pyrene (BP), methylcholanthrene (MC) and the other mutagenic polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) emitted ultra-weak chemiluminescence (CL) in an S9 mix system. In case of BP, there were two types of CL, namely, red CL that appeared in early stage and blue CL that appeared after the red one. It was suggested that the former CL was induced by incidence of singlet oxygen, and the latter was originated in intermediary metabolites of BP (Osada, K., and S. Kimura 1988;). In this study, we challenged to investigate the relationship between CL intensity from 11 different PAHs or 4 types of aflatoxins, and mutagenicity measured by Ames test and bone marrow micro nucleus test. In case of PAHs, both red and blue CL emission significantly correlated with mutagenicity measured by Ames test (TA100), and tended to correlate with micronuclei induction rate in ICR mice. 7,12-Dimethylbenzanthracene induced exceptionally high number of micronuclei compared with other PAHs. Consequently, the coefficient of the correlation with micro nucleus test was lower than that with Ames test. In case of aflatoxins, CL emission was significantly correlated with mutagenicity measured by both Ames test and micronucleus test in SD rat. These results suggested that CL intensity from PAHs and aflatoxins indicated the magnitude of mutagenicity of these compounds.

0-8 マウス受精卵の発生におよぼす各種洗剤主成分の影響

○石井裕¹、鮫島義弘²、佐治文隆²、野村大成¹
(¹阪大医放基、²阪大医産婦科)

合成洗剤の主成分として広く使われている界面活性剤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るが、従来の石ケン (脂肪酸系) では対照と差がないことが報告されている。前回の大会では卵そのものに対するAS、LASの影響を体外培養の系で検討した結果を報告した。今回は石ケンの場合を検討した。

B6C3F1メスマウスより排卵誘発剤を用いてとり出した未受精卵を、C3101F1オスマウスの精子と体外受精させ、5時間後受精卵を集めた。石ケンによる処理は、受精卵採取後の1時間処理と、培養液中での継続処理の二通りである。発生の指標には胞胚形成能を用いた。AS、LAS処理では、1時間処理の場合0.03%前後に、継続処理では、0.02%前後に明らかなしきい値が見られたが、石ケンの場合は実験可能な0.05%まで濃度をあげても対照群と差がみられなかった。AS、LASの場合、しきい値以上では卵実質に変化がみられ、1細胞期から先へは全く発生が進まなかった。このAS、LASを含む小液滴は表面張力が低下し、液滴が広がるが、石ケンの場合は同じ濃度でも厚みのある液滴を形成する。発生におよぼすAS、LASと石ケンの差は界面活性剤としての能力の差によるものと考えられる。

0-9 合成洗剤 アルキルベンゼンスルホン酸塩のUV照射・オゾン併用処理による分解と生成した変異原の早期消失

○村上和也¹、松本久男¹、木内武美²、大西克成² (¹徳島文理大薬、²徳島大医)

合成洗剤として広く使用されているアルキルベンゼンスルホン酸塩(LAS)は、家庭下水や工場排水に含まれ、河川、湖沼、内海等に蓄積残留して水質汚濁問題を引き起こしている。一方、オゾンによる浄水処理は近年になって日本でも行なわれつつあるが、処理によって水中有機物から変異原物質が生成することが報告されている。今回合成洗剤であるLASを用い、UV照射とオゾンによる処理を行ない、変異原物質の生成及び消失について検討した。

LAS水溶液をUV照射・オゾン併用処理もしくはオゾン単独処理し、その分解生成物として変異原であるglyoxalとformaldehydeを検出した。これらの物質はオゾン単独処理よりも併用処理した方が早く生成し、早く消失した。

次に、生成が確認されたglyoxalを処理したところ、その分解生成物として、oxalic acid、formic acid及びglyoxylic acidを検出した。glyoxalとその分解生成物とはやはり併用処理した方が、単独処理よりも速やかに消失した。

以上のことから、オゾン処理にUV照射を併用することによってLAS及びLASから生じる変異原が早期に消失することが明らかであり、UV照射・オゾン併用処理は水処理上有効であると考えられる。

0-10 ショウジョウバエに対する近紫外光のgeontoxicityとソラレンの影響

○田辺富士美、根岸友恵、早津彦哉 (岡山大・薬)

近紫外光(320~400 nm)がショウジョウバエ幼虫に対して変異原性があり、8-Methoxy-psoralen存在下で増強されることは既に報告した。今回我々は、近紫外光のDNA傷害作用と変異原性との関係について調べた。

DNA傷害作用は、修復能欠損二重変異株を用い雄/雌の性比が小さくなるかどうかによって検出した。変異原性は翅毛スポットテストを用い、成虫の翅毛に現われる体細胞突然変異を観察した。Sucrose溶液を入れたプラスチックシャーレに3令幼虫を入れ、近紫外光単独の場合厚さ6mmの軟質ガラスを通してブラックライトで照射した。対照群として非照射の場合暗所に置いた。

強さ約5 W/m²の近紫外光20時間照射したときの雄/雌の比は、1.18で無処理の値1.33と差はなくDNA傷害作用は検出されなかった。但し総個体数は無処理に比べて0.76とわずかに減少した。一方変異原性は14時間単独照射したときすでに観察されている。従って近紫外光単独では今回観察したDNA傷害作用と変異原性に相関がみられなかった。8-Methoxypsoralen 0, 13, 27 μM存在下9時間照射のとき雄/雌の比は1.20, 0.72, 0.085, 非照射のとき1.32, 1.10, 1.22なのでDNA傷害作用が検出された。ソラレン27 μM存在下14時間照射のとき、単独照射に比べハネ1枚当たりのスポット数が、Small singleで4.4倍、Large singleで7.0倍、Twinで17倍という強い変異原性が観察され、DNA傷害作用と相関性がみられた。

O-11 *S. typhimurium*高感受性株の分子 的基礎：ニトロ還元酵素、アセチル転移酵 素遺伝子の塩基配列

○渡辺雅彦、能美健彦、石館 基（国立衛試
・変異遺伝）

我々はさきに、ニトロアレーン、芳香属ア
ミンに高感受性を示す*S. typhimurium* TA98、
TA100の誘導株を樹立した。今回、これら高
感受性株に導入されているSalmonellaのニト
ロ還元酵素、アセチル転移酵素遺伝子の塩基
配列を調べ、若干の考察を加えたので報告す
る。

ニトロ還元酵素の遺伝子は、“1.6Kb領域”
に存在することが推定されているが^{1,2)}、こ
の領域の中に、651base (217codon) の open
reading frameがあり、そこからコードされ
るタンパクの分子量は24Kdと推定された。こ
のopen reading frameが一部欠けたpYG222は
もはや酵素高産性能を持っていないこと、細
胞質画分のSDS-PAGEにおいて高産性
株に顕著に見られるバンドが約26Kdであるこ
とから、上記open reading frameにはニトロ
還元酵素がコードされていることが予想され
る。

アセチル転移酵素遺伝子に関しては、pYG
219などに組込まれており、酵素活性に必要
な“1.35Kb領域”²⁾に、open reading frame
が見出されたが、このopen reading frameで
はnativeなアセチル転移酵素のN末端が一部
欠けている可能性があるため、現在この部分
のシーケンスについても検討している。

¹⁾ Mutat. Res. in press (1989)

²⁾ 環境変異原研究 in press (1989)

O-12 変異原物質短期検索のためのS9濃 度勾配代謝活性化法の開発

○佐々木澄志、田中憲徳（食薬安全セ・細胞
生物部）

〔目的〕変異原性予知の点から、数多くの短
期検索法が開発されてきた。化学物質によっ
ては、代謝されて初めて活性を示すものがある。
通常のスクリーニングでは、S9濃度は10
から30%の間で一定にして実験を行い、S9を
添加した時としない時の結果から検体の変異
原性を評価している。しかしながら、活性化
するための至適S9濃度は物質によって著しく
異なることが知られている。今回軟寒天を用
いることでS9の濃度勾配を作り、その中で細
胞と検体を反応させ、突然変異率を求めるこ
とで変異原の検出系への応用を検討した。

〔実験方法〕検体は高濃度のS9で活性化する
ものとしてDMN、低濃度で活性化するもの
としてAFB₁、不活性化するものとしてMNNG、影
響を受けないものとしてEMSを選んだ。V79
細胞をS9の入っていない軟寒天とS9の入って
いる(10%)軟寒天に懸濁して、ラプテックチャ
ンバーにそれぞれ左右から分注し、S9の濃度
勾配(0~10%)の中で反応させた。遠心して細
胞と軟寒天を分離した後、播種して6TGとウ
アブイン耐性を検出した。また、通常の突然
変異試験と比較検討した。

〔結果と考察〕1.通常の突然変異試験では、
至適S9濃度の時のみ突然変異率は用量に依存
して増加した。2.濃度勾配法では、いずれの
物質においても用量に依存して突然変異が誘
導された。S9濃度勾配法はそれぞれの化学物
質の至適S9濃度を広くカバーすることから、
変異原物質のスクリーニング系として適して
いることが示唆された。

O-13 乳がんイニシエーター検索のため のマウス乳腺培養細胞を用いるin vitro小核 試験

○鈴木邦夫¹、光岡知足^{1,2} (¹ 理研 動物・
細胞, ² 東大農)

近年、日本において食餌の欧米化に伴って
増加している乳がんのイニシエーターについ
てはまだ特定されていない。このことは、こ
れまでの検索法は乳腺組織の代謝を反映して
いない非特異的な方法を用いてきたことによ
ると思われる。私どもは乳がんイニシエーター
の特異的検索法としてマウス乳腺の培養細胞
を用いる小核試験を開発した。

ICRマウスの乳腺上皮細胞をコラーゲンゲル
・無血清システムを用いた変法 Eagle培地で
6日間培養し、化学発がん物質を添加後24
時間でメイグリユンワルト・ギムザ染色を行
って小核の出現を計数した。2種の乳腺発がん
物質 N-methyl-N-nitrosourea, 7,12-di-
methylbenz[a]anthracene および直接発がん
物質 N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine
はマウス乳腺の初代培養細胞に小核の出現を
増加させたが、非乳腺発がん物質のN-nitro-
sodimethylamine, 1,2-dimethylhydrazine, 4-
nitroquinoline 1-oxide および benzo[a]-
pyrene(BaP)は BaPを除いて陰性であった。

これらの結果はコラーゲンゲル・無血清培
養システムを用いたマウス乳腺上皮細胞の小
核の出現を定量することによって、ヒト乳がん
のイニシエーターの検索が可能であることを
示唆しており、Sharkey and Bruce (1986)
によって開発された in vivo法よりも感度お
よび簡便さにおいて優れていると思われる。

O-14 環境発癌物質による大腸粘膜細胞 のDNA損傷および分裂促進効果

○権 太浩、蜂谷紀之、滝澤行雄
(秋田大・医・公衛)

〔目的〕in vivo不定期DNA合成(UDS)
試験法を実施し、大腸癌誘発因子がラット大
腸粘膜細胞に及ぼす影響を調べた。

〔方法〕UDS試験は降旗ら(トキシコロジ
ーフォーラム, 9, 177, 1986)に従った。すな
わち、6-8週齢のF344ラットに、1,2-dimeth-
ylhydrazine (DMH), azoxymethan(AOM
)、deoxycholate (DOC), sodium cholate
(SC)等を注腸投与後、大腸粘膜約20mgを
切り出し[³H]-チミジン(10 μCi/ml)を含
むL-15培地で2時間培養後、DNA分画を
抽出し、DNAへの[³H]-チミジンの取り
込みをヒドロキシウレア存在下(UDSの測
定)と非存在下(総DNA合成, TDSの測
定)とで調べた。

〔結果〕大腸癌誘発性が知られているDMH
は75mg/kg投与でUDS及びTDSを有意に
増加させ、そのピークは投与後6時間目にあ
った。大腸癌原物質AOMではTDSが下がる
のに対し、UDSが誘発したことからDNA
損傷誘起性を示唆した。また大腸癌のプロ
モーターであるDOC及びSCはTDS等を
増大させたが、これは胆汁酸の腸管上皮細胞
の細胞周期の促進によるものと考えられる。
また胆汁酸のTDS増加はCaCl₂の前投与に
より一部抑制されたことからラット大腸で
CaCl₂の抗発癌プロモーター作用も示唆され
た。

〔結論〕本法により大腸癌原物質によるUD
S及びTDSの活性を短時間で検索できた。
またCaCl₂には抗大腸癌プロモーター作用も
見られた。

O-15 Mitomycin C による in utero マウス初期胚の SCE 誘発

○三瀬敬治, 浦沢正三
(札幌医科大学 衛生学講座)

目的: マウスを用いて, 胎盤形成が完成される以前の胚に与える MMC の影響を SCE により in utero において検討した。

方法: 材料は 8-12 週令の近交系マウス (BALB/c) を用いた。

交尾後 5.5 日目, および 6.5 日目の妊娠マウスに Brdu タブレットを皮下に埋め込み, 同時に体重あたり 0 mg/kg から 4.0 mg/kg 相当の各濃度の MMC を腹腔内に注射する。

14-16 時間後, 胚を取り出してコルセミド存在下の MEM で 1 時間培養, 低張処理の後にメタノール・酢酸で固定する。乳酸を加えて胚の細胞塊を崩し, 空気乾燥法で染色体標本を作る。

SCE の観察は染色体標本をアクリジンオレンジで染色し, 落射蛍光顕微鏡で行なう。

また別に, 26 時間同様の Brdu および, MMC 処理を行ったマウスの骨髓細胞を用いて SCE 頻度を比較する。

結果: 胎盤完成以前である胚においても MMC の濃度に従って, 明らかな SCE 頻度の増加が観察された。MMC の濃度による SCE 頻度の増加率は, 骨髓細胞と 5.5 日目に処理された胚細胞とはほぼ等しいが, 6.5 日目に処理された胚では, 濃度に伴う増加がより著明に観察された。

O-16 ENU 誘発生殖細胞障害による F₁ での機能的障害と染色体異常

○後藤博子¹, 野村大成² (¹佐保短大, ²阪大医)

放射線や化学変異原が親マウスに作用すると, 子孫に形態的異常 (奇形) が発生することが野村により発見され, この結果は Lyon らによっても確認されている。本研究では, ICR 親マウスに ENU (Ethylnitrosourea) を投与し, F₁ における形態的な奇形のみならず機能的障害の発生について検討を行った。

ICR 雄マウスに 50 μg 又は 100 μg/g の ENU を腹腔内投与し, 一定の間隔において正常なマウスと交配した後, 妊娠 18 日目に帝王切開し, F₁ 胎児の蘇生を行った。F₁ 胎児には, 小人症, 口蓋裂, 外脳症等の形態的奇形の外, 蘇生の困難な胎児 (RDS: Respiratory distress Syndrome) が誘発された。これら蘇生難の胎児には肺虚脱や動脈管開存がみられた。RDS の発生頻度は精原細胞期作用の方が精子期作用より高く, また, 50 μg/g では, 発生率は低く量効果には直線性は認められなかった。この結果は特定座位法の場合と全く同じであった。しかし, 精原細胞期暴露による ENU 1 μg/g 当たりの RDS 発生率は 3.7×10^{-4} で, マウスの通常の変異率よりも 10-20 倍高頻度であった。

RDS を示す胎児のうち約半数には小人症や巨大胸腺などがみられたが, 残りの胎児には何らそのような形態的異常は認められなかった。ENU 投与によっては精原細胞には転座は稀にしか起こらなかった。また異常胎児の染色体解析では, 小人症の一例にのみトリソミー (19) がみられた。

O-17 ベンゾ (a) ピレンの活性化体の変異原性に対する生体関連ポルフィリン類の阻害

○有元佐賀恵, 早津彦哉 (岡山大・薬)

ヘミンによるベンゾ (a) ピレン (B(a)P) の変異原性に対する阻害作用について既に報告した¹⁾。また, 関連のポルフィリン類に同様の作用のあることも見出した。阻害のメカニズムとして, 代謝酵素への影響と代謝活性化体への影響が考えられる。今回, 代謝活性化体へのこれらポルフィリン類の作用を検討した。B(a)P diol epoxide をテトラヒドロフランに溶かし, 分注後乾固し, Ames test にかけると, 2 nmol 当り 485 His⁺ (TA100, -S9) が得られた。この時, 修飾物質を共存させて効果を調べたところ, ヘミン及びプロトポルフィリン, ヘマトポルフィリン, ビリベルディン, ビリルビンならびに葉緑素の誘導体クロロフィルに活性阻害効果があった。また, B(a)P-4,5-epoxide (DMSO 溶液) にたいして, ヘミン, プロトポルフィリン, ヘマトポルフィリン, ビリルビン, クロロフィル及びスピルリナの葉緑素 (クロロフィル a) が阻害作用を示した。B(a)P 活性化体に対するポルフィリン類の阻害メカニズムとして, ① B(a)P 活性化体の分解を促進している。② B(a)P 活性化体と相互作用して DNA への反応を妨げている, などが考えられる。我々はヘミンが Trp-P-2 の活性化体 Trp-P-2 (NHOH) と complex 形成していると考えられること, またヘミンにより Trp-P-2 (NHOH) の分解が促進されることを報告している²⁾。B(a)P 活性化体へのポルフィリン類の作用も同様である可能性がある。

1) S. Arimoto, T. Negishi and H. Hayatsu, *Cancer Letters*, **11**, 29-33 (1980).

2) S. Arimoto and H. Hayatsu, *Mutation Res.*, (1989) in press.

O-18 クロロフィルの Trp-P-2 に対する変異原性抑制効果の解析

○根岸友恵, 北村 歩, 糸目千穂, 小原淑子, 明石牧子, 早津彦哉 (岡山大・薬)

クロロフィル及びクロロフィルンが, 細菌やショウジョウバエで Trp-P-2 などの変異原性を抑制することは既に報告した。その機構について, in vitro の実験結果から, 複合体形成によるものと推測された。今回このことを in vivo で確かめるため, ショウジョウバエとラットで解析を行った。

ショウジョウバエの飼育培地にクロロフィルン-セファロース (クロロフィルンがセファロースに固定されており, 消化管からの吸収が起らないと期待される) と Trp-P-2 を同時に添加すると Trp-P-2 の翅毛スポット変異の発現頻度が 32% に減少した。クロロフィルン自身を同時投与した場合は約 35% になり, ほぼ同程度の阻害となった。セファロースのみでは阻害効果はなく, 従ってクロロフィルンは消化管内で, Trp-P-2 の吸収を妨げ, 活性発現を抑えていると考えられる。次に Trp-P-2 の排泄をクロロフィルンが促進しているかを調べるため, ラットに Trp-P-2 3 mg, クロロフィルン 300 mg 入りの餌を与え糞便及び尿中への Trp-P-2 の 1 日後の排泄量を青綿回収法により求めた。Trp-P-2 のみを加えた餌を与えた場合と比べて, 尿中の排泄量に両者間で大きな差はなかったが, 糞便中ではクロロフィルンの同時投与で, 約 3 倍排泄量が増加していた。また排泄の速度も速くなっていた。以上よりクロロフィルンは Trp-P-2 と消化管内で複合体を形成する結果, 吸収を妨げ, 排泄を促すと考えられる。

O-19 インドネシア産食用豆 Djekol 豆調理による亜硝酸捕捉剤、チオプロリンの顕著な生成について

○津田充有、倉島由紀子、江角浩安、杉村隆
(国立がんセンター研究所、生化学部)

Thioprolin (TPRO) は cysteine と formaldehyde (HCHO) との縮合により生成する含硫アミノ酸である。TPRO はヒト体内、特に胃の酸性条件下で亜硝酸と反応して、N-nitrosothioprolin (NTPRO) となり代謝されずに尿中に排泄される。NTPRO は変異原性を示さない。この事から我々は TPRO が、ヒト体内での亜硝酸捕捉剤として、発がん性ニトロソ化合物の体内生成抑制に寄与している事を提唱してきた。

本研究では、インドネシア産食用豆、Djekol 豆中の TPRO の検索を行った。乾燥 Djekol 豆の生及び煮沸 homogenate 中の TPRO を亜硝酸 (25mM, pH1.5) 処理し、生成した NTPRO を EtOAc MeOH で抽出、CH₂N₂ 処理後、GC-TEA により分析し、TPRO を定量した。乾燥 Djekol 豆 (可食部 100g) の生及び煮沸 homogenate 中に、それぞれ 41.3 及び 235.5mg の TPRO を検出した。この煮沸による生成増加は、タラ魚肉や乾燥シイタケで見られた TPRO 生成量に比して、100 倍以上高いものであった。Djekol 豆には、cysteine と HCHO との 2:1 の縮合体 Djekolic acid (cys-S-CH₂-S-cys) が約 4% 含有する事が知られている。本含硫アミノ酸水溶液の加熱処理 (95℃, 30分) では、TPRO への変換は起こらなかった。一方、Djekol 豆 (100g) の生 homogenate 中に 14mg の HCHO を検出した。また、遊離 cysteine も多い事から、煮沸による TPRO の顕著な増加は、cysteine と HCHO との縮合による生成と考えられる。

Djekol 豆はインドネシアを中心とする東南アジアで常食されている。高濃度 TPRO 生成食品として、体内亜硝酸捕捉剤としての機能、更に、TPRO の他の生理作用を知る上で注目に値する食品の一つと考える。

O-20 umu 試験を用いた唾液の抗変異原作用の検討：唾液の濾過及び保存について

岡田正喜¹、中村清一²、○三浦邦彦¹、森本兼義¹ (¹阪大医 環境医学、²大阪府 公衛研)

umu 試験系を用いてヒト唾液の抗変異原性の検討を行った。唾液は非喫煙者の健常成人より同一時間帯に採取し、3000rpm・5分の遠心後の上澄みを使用した。AF-2 (0.024 µg/ml) による SOS 反応誘発性 DNA 傷害量は、採取直後の唾液による3分間の前処理 (室温) によって 34% にまで減少することが確認された。唾液による AF-2 の変異原活性の低下は 0.45 µm のフィルターによる濾過後でも観察された。また、唾液の抗変異原性は 24 時間の冷蔵 (10℃) あるいは冷凍 (-12℃) 保存後も観察されたが、特に冷凍保存後の唾液の抗変異原活性は、採取直後のそれとほぼ同一であった。本実験の結果は、多数の提供者よりの検体を用いた実験疫学的検索が可能であることを示している。なお、3名の成人より採取した検体を検討した結果、唾液の抗変異原活性には検体提供者間で有意な差が観察された。将来的には多数の提供者より検体を得て、食生活などのライフスタイルと唾液の抗変異原活性の関連性の定量的な解析が必要であろう。

O-21 化学変異原による SOS 反応誘導に対する尿の修飾作用

中村清一、小田美光、小坂 博 (大阪府公衛研)

我々の周りには多くの変異原物質が存在することが知られているが、一方、変異原物質を不活性化したり突然変異の発生を抑制したりする物質のあることも明らかになっている。我々は、尿に抗変異原活性を予想させる SOS 反応抑制作用のあることを見出したのでその結果を報告する。

0.1 ml の溶媒に溶かした変異原物質と 0.5 ml の尿の混合液に対数増殖期の試験菌液 (ネズミチフス菌 TA1535/pSK1002) 1.9 ml を加え 37℃ で 2 時間振とう培養した。培養後、培養液を遠沈し、上清を除いた後、沈さ (菌) を 2.5 ml の生理的食塩水に懸濁し、菌に産生された β-ガラクトシダーゼ活性を Miller の方法により測定した。その結果、furylfuramide による SOS 反応の誘導は尿により抑制されることが示された。この抑制効果は尿の添加量と共に増加した。furylfuramide による SOS 反応の誘導を抑制する成分は透析膜を通過し、また、その作用はオートクレーブ処理 (120℃、15分) あるいは、0~4℃ で長期保存でも変化せず、クロロホルムでも分離されなかったことから抑制因子は酵素や蛋白質の様な物質ではなく比較的分子の安定な親水性の物質であると思われる。尿の抑制作用は同一人の場合、採取日によるちがいはほとんど見られなかったが、その作用には個人差がみられた。

O-22 前癌病変ラットの肝ミクロソームによる癌原性ヘテロサイクリックアミンの代謝活性化

○小沢正吾、Abu-Zeid Medhat、村山典恵、山添 康、加藤隆一 (慶大医・薬理)

(目的) 前癌状態ではチトクロム P-450 (P-450) などの薬物代謝酵素活性が著しく変動する。しかしその実体はよくわかっていない。今回我々はラット肝前癌状態における薬物代謝酵素活性の変動の原因を知るために前癌病変ラットの肝ミクロソームによる 2-アミノフルオレン (2-AF)、IQ、及び Glu-P-1 の代謝活性化を測定し、さらにこれらの物質の活性化を触媒すると考えられている P-450 アイソザイムの変化との関連を調べた。(方法) 1. Solt-Farber の方法により F344 雄ラットに肝前癌病変を誘導した。2. 前記癌原物質を肝ミクロソームとインキュベート後、S. typhimurium TA98 に対する変異原活性を測定した。3. P-450 アイソザイムの含量をウエスタンブロットで測定した。(結果と考察) 1. 前癌病変のマーカー酵素である Epoxide hydrolase 活性が対照の 3.7 倍に上昇した。2. 前癌病変時の 2-AF、IQ の活性化は対照の 66% 及び 45% と有意な低下、Glu-P-1 の活性化も低下傾向を示した。3. 前癌症状の肝では、P-450-male, P-450b が対照の 63% 及び 40% とそれぞれ有意に低下、P-450e, P-448-H, P-450_{9p-1} も低下傾向を示した。4. 精製酵素を用いると、Glu-P-1 は P-448-H により、2-AF や IQ は P-448-H 及び P-450-male により活性化される。以上の結果より前癌病変時のラット肝による 2-AF、IQ の活性化の低下には P-450-male の低下が P-448-H の低下よりも主要な原因になっていると考えられた。

O-23 Enzymatic acetylation and sulfation of N-hydroxyarylamines in bacteria and rat livers.

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

In Ames mutagenesis test, without S-9 mix, the number of revertants of *Salmonella* TA98 induced by N-hydroxy-IQ is 10 fold higher than N-hydroxy-Glu-P-1, and the extents of the binding to calf thymus DNA of N-hydroxy-Glu-P-1 were, however, 3.9 to 8.6 fold higher than that of N-hydroxy-IQ in both acetyl CoA and PAPS fortified in rat hepatic cytosols systems. To clarify the apparent discrepancy, the activating capacities of both TA98 and TA98/1,8-DNP₆ cytosols on the binding of both substrates have been examined in comparison with those from rat livers. In the presence of PAPS and either of TA98 or TA98/1,8-DNP₆ cytosols, no significant DNA binding with both substrates was detected. In addition, both bacterial cytosols showed no measurable activity on the sulfation of p-nitrophenol, suggesting no capacity for sulfotransferase-mediated activation of these N-hydroxyarylamines in *Salmonella*. On the contrary, the extents of the acetyl CoA fortified binding of N-hydroxy-IQ in TA98 cytosols, but not of TA98/1,8-DNP₆, were 6 and 9 fold higher than those in hepatic cytosols from male and female rats, respectively, although the extents of the binding of N-hydroxy-Glu-P-1 were rather higher in hepatic than in bacterial cytosols. These results indicate that the differences in the substrate specificities of acetyltransferases may be involved, in part, in the difference of their DNA damage in bacteria and mammals.

O-24 Sulfotransferase による 癌原物質 6-Hydroxymethylbenzo[a]pyrene の活性化と Glutathione による不活性化

○奥田晴宏、長谷川雅俊、渡部 烈 (東京薬大・2 衛生化)

【目的】我々は、癌原性ヒドロキシメチルアレン類の sulfotransferase (ST) による硫酸エステルへの活性化機構を報告してきた。今回は、癌原物質 6-hydroxymethylbenzo[a]pyrene (6-HBP) の ST による活性化と glutathione (GSH) S-transferase (GST) による不活性化を明らかにすることを目的とした。

【方法・結果】1) 6-HBP は *S. typhimurium* TA98 に対して雌性ラット肝被透析可溶性画分 (S105) および PAPS 共存下、NADPH-S9 系共存下よりも、強い変異原性を示した。この変異原性は系より PAPS を除くか、熱変性 S105 を使用すると完全に消失した。

2) PAPS-S105 系共存下における 6-HBP の変異原性発現には顕著な性差が認められた (雌 > 雄)。3) 6-HBP と上記活性化系とのインキュベーション混液中より直接変異原 6-HBP sulfate が単離され、合成標品と同定された。4) 6-HBP の PAPS-S105 系共存下における変異原性は GSH の添加により抑制された。また、6-HBP sulfate の直接変異原性は GSH の存在下 S105 により抑制された。

【結語】6-HBP はラット肝 ST により 6-HBP sulfate へ代謝活性化され、生成した 6-HBP sulfate は GSH 存在下 GST により不活性化されることが明らかとなった。

O-25 ショウジョウバエ幼虫の薬物代謝能と変異原に対する変異誘発力の関係

○梁治子¹ 井上裕章² 藤川和男³ 吉川邦衛² 野村大成¹ (¹阪大医、²三菱化成、³武田薬品)

遺伝的体質の異なる変異原に対する突然変異誘発や致死作用の比較から、生体内での変異誘発機構に関する貴重な情報を得ることができる。遺伝学的解析の容易なショウジョウバエの利点を利用して、私達は、個体の薬物代謝能と変異誘発力の関係を調べる計画をした。その第一段階として薬物代謝能に関する翅毛スポットテスター株を作成した。薬物代謝能の変異因子として、DDT 抵抗性系統 Hikone-R (HR) の第2染色体に注目した。この染色体は、P-450 依存性の薬物代謝活性を高める遺伝子RIを担っている。対照因子として、DDT 感受性野生型系統 Canton-S (CS) の第2染色体を選んだ。これらの染色体を、翅毛スポット用標準株 (mwh と flr³/TM3) のそれと置き換え、高代謝活性株 (HR:mwh と HR:flr³/TM3) と対照株 (CS:mwh と CS:flr³/TM3) を作成した。変異原処理はそれぞれのペアの F₁ 3 令幼虫に行なった。変異原として、dimethylnitrosamine (DMN) と X 線を用いた。LD₅₀ を指標に相対値を求めると、HR系:CS系:標準系は、DMN 0.3:1:1, X線 1:1:1.2 となった。この結果は、HRが比較的高いDMN-demethylase 活性有している事実とよく符合する。CS系とHR系テスター株系雑種 F₁ (CS/HR) 幼虫のDMS に対するLD₅₀ はCS系、HR系のそれぞれのペア F₁ 幼虫のLD₅₀ の中間値であった。このことは、RI遺伝子が半優性であることを示唆する。テスター株の作成は一応、成功したとみなし、翅毛スポット誘発力を急ぎ検討している。

O-26 大腸菌UmuD蛋白質の開裂=活性化と紫外線誘発突然変異におけるRecAの第3の役割

○能美健彦¹, J.R. Battista², L.A. Dodson², G.C. Walker² (¹国立衛試、²MIT)

umuD/C遺伝子は、紫外線によって起こる大腸菌の突然変異誘発に必須な役割を果たしており、その発現はRecA, LexAにより調節されている。UmuDはLexAのC-末端側とアミノ酸配列上の相同性を持ち、SOS反応の際にRecAに依存してCys²⁴-Gly²⁵部位で開裂する。今回、site-directed mutagenesis によりUmuDの開裂部位からN-末端側あるいはC-末端側ポリペプチドのみをコードしたプラスミドを作製し、これらを用いてUmuDの開裂の生理的意義について検討した。

C-末端側ポリペプチドのみをコードしたプラスミドをUV nonmutableな①umuD44株 ②lexA(Def)recA430株 ③lexA(Def)ΔrecA株へ導入すると、①と②ではUV mutabilityの回復が観察されたが③ではmutabilityは回復しなかった。これに対しN-末端側ポリペプチドのみをコードしたプラスミドを導入した場合には、いずれの菌株においてもUV mutabilityの回復は見られなかった。

これらの結果から i) UmuDの開裂は突然変異誘発に重要な活性化反応であり、lexA(Def)recA430株がUV nonmutableである主な原因はUmuDの開裂を行えない為であること ii) 反応後に生じるC-末端側ポリペプチドがUmuDの活性フラグメントであること iii) RecAは大腸菌の紫外線誘発突然変異においてLexAの開裂、UmuDの開裂の他に第3の役割を果たしている可能性が示唆された。

O-27 Trp-P-2 活性中間体によるDNA 組換えの誘発

○金光真一¹, 平本一幸¹, 根岸和雄², 池田日出男³, 早津彦哉¹ (¹ 岡山大薬, ² 岡山大遺伝子実験施設, ³ 東大医科研)

発癌性を持つ変異原物質Trp-P-2の活性中間体であるTrp-P-2(NHOH)が、裸のDNAや細胞内DNAに対して一本鎖切断を起こすことをすでに報告してきた。このDNA一本鎖切断がDNAの組換え頻度を上昇させるのではないかと考え、λファージを用いて組換え頻度への影響を調べた。

λDFとλSRが同時に感染した大腸菌に、Trp-P-2(NHOH)を作用させたのちに溶菌させた。その結果、Trp-P-2(NHOH)の濃度依存的に、λDFとλSRとの相互組換えを起こした組換え体が現われ、その頻度は対照の約5倍であった。一方、Trp-P-2では組換え頻度の上昇は見られなかった。また、Trp-P-2(NO)ではTrp-P-2(NHOH)よりは低いが、濃度依存的な組換え頻度の上昇が起こり、対照の約3倍となった。これは、Trp-P-2(NO)とTrp-P-2(NHOH)が平衡状態にあることによって起こったと考えられる。

以上の結果より、DNA切断作用のあるTrp-P-2(NHOH)によっては、大腸菌菌体内でλファージのDNA組換えが生じるが、DNA切断作用のないTrp-P-2では組換え誘発能がないことがわかった。

O-28 Trp-P-2による誘発突然変異スペクトル

諸田勝保¹, ○尾川博昭¹, 加藤安彦¹, 木村博², 加藤武司³ (¹ 九工大・工, ² 滋賀医大, ³ 阪大・医)

Trp-P-2は焼けこげ食品に含まれる発ガン性ヘテロサイクリックアミンの一つで、その変異誘発機構がよく研究されている。代謝活性化されたN-OAc-Trp-P-2はDNAのグアニン8位炭素と共有結合し、C⁸G-Trp-P-2付加体に変異原性の主因であることが知られている。しかし、DNA中のC⁸G-Trp-P-2付加体がどのようにして突然変異に固定化されるのかについてはまだよくわかっていない。

本発表は加藤等によって樹立されたヒトHPRTcDNA遺伝子をもつシャトルベクター系を用いて、Trp-P-2によって誘発されたHPRT⁻突然変異遺伝子のDNA塩基配列を知らべた結果について報告する。cDNA-HPRT遺伝子を染色体に組込んだマウス培養細胞VH-12をM9存在下でTrp-P-2処理し、誘発されたHPRT⁻変異細胞クローンからcDNA遺伝子を回収し、シーケンシングによって変異塩基配列を同定した。59個の変異遺伝子のうち、塩基置換18(30%)、フレームシフト30(51%)、欠失8(14%)、その他3(5%)であった。変異部分の塩基配列を詳細に検討した結果、Trp-P-2誘発変異の~70%はC⁸G付加体によると考えられる。また、20~30%はC⁸G付加体以外のDNA損傷に由来する可能性が示唆される。

O-29 染色体型異常を誘発するピリドンカルボン酸系誘導体について

○祖父尼俊雄¹, 川瀬雅子², 水沢博¹, 石館基¹, 池上洋二³, 小野勝広³, 安藤俊夫³ (¹ 国立衛試・変異遺伝, ² 輪カイノス伊東研究所, ³ 明治薬大・衛生化学)

ピリドンカルボン酸系誘導体は抗菌剤として広く用いられ、細菌のDNAジャイレースを阻害する作用をもつことが知られている。この誘導体の1つであるMC110(大日本製薬)は培養細胞に感染したマイコプラズマの除去剤として用いられてきたが、使用濃度をはるかに越えた濃度では、培養細胞に対し染色体異常を誘発する。チャイニーズ・ハムスター(CHL)細胞に対して、24および48時間処理で10μg/mlより染色体異常が有意に増加し、20μg/mlで90%以上の細胞に染色体異常が誘発された。染色体型交換が主であるが、染色体型交換も観察された。3時間処理後21時間目では、染色体型異常の出現率が著しく上昇した(80μg/mlで80%以上)。また、ヒト培養リンパ球に対しても3時間処理後52時間目では、100μg/mlで90%以上の細胞に染色体型交換が観察された。

多くの化学物質が染色分体型異常のみを誘発するのに対し、本剤は染色体型異常をも誘発するという特性を示した。本剤にも細菌のジャイレース活性を阻害する作用のあることが確かめられている。細菌のジャイレースと同様の機能をもつ哺乳類細胞のトポイソメラーゼに対しても、本剤が阻害効果を示すことが推測され、目下検討中である。トポイソメラーゼ阻害効果を示すnovobiocinなどの染色体異常誘発性と比較検討し、本剤の染色体型異常の誘発機構について考察を加える。

O-30 DNA合成阻害剤の染色体異常誘発性について

○鈴木 洋, 大沢浩一, 渡部知亜紀, 山代雅子, 安井一, 中根貞雄(大正製薬 総合研)

DNA合成阻害剤は、染色体異常を誘発することが知られているが、その阻害様式は、合成基質の細胞内プール量の減少、DNAポリメラーゼへの作用、鋳型DNAの修飾など多くの様式が知られている。そこで、阻害様式の異なるDNA合成阻害剤10数種を用いてCHL細胞への染色体異常誘発性を指標として、阻害様式との関連性を調べた。

その結果、DNA切断作用のあるブレオマイシン、鋳型DNAを修飾し、トポイソメラーゼIIにも作用を及ぼすアドリアマイシンなどでは、薬剤の短時間処理(処理時間:6時間-回復時間:18時間)で染色体型異常の出現比率が高かった。一方、合成基質の細胞内プール量を減少させるヒドロキシウレア、5-フルオロウラシル、拮抗阻害剤であるシトシンアラビノシドなどでは、染色分体型異常の出現比率が高かった。また、短時間処理で異なる染色体異常出現パターンを示したが24時間の薬剤処理では、いずれも染色分体型異常の出現比率が高かった。

短時間処理での異常出現タイプの違いは、薬剤のDNA合成阻害様式、特にDNA鎖切断作用と関連のあるものと思われた。

また、数種のトポイソメラーゼ阻害剤についても報告する。

O-31

5-Fluorouracilの染色体毒性発現におよぼす各種DNA前駆体の同時投与効果: マウス胎仔肝赤血球の小核を指標とする解析

○中村 稔, 藤川 和男, 中島 由弥, 一ツ町晋也
(武田薬品, 薬剤安全性研究所)

昨年度の本大会で, マウス胎仔肝の血液細胞に対する5-FUの染色体毒性が nucleotide thymidylate (dTMP)の同時投与によって抑制されることを報告した。今回は, thymidine (Thy), dAMPおよびdGMPの同時投与効果について報告する。

妊娠13日目の(C3HxSWV)F₁マウスに5-FU水溶液を単独に腹腔内投与した群とThy, dAMP, あるいはdGMPを含む5-FU水溶液を注射した群を設けた。5-FUの投与量は, 6.25mg/kgから25mg/kgまで公比2で3段階設定したが, Thy, dAMPおよびdGMPは, 5-FUの用量に関わらず, いずれも250mg/kgとなるように投与した。

対照実験として, 蒸留水(10ml/kg), Thy, dAMPおよびdGMPの単独投与を行った。投与後27時間目に胎仔肝から赤血球を採取し, 小核観察のためのGiemsa染色標本を作成した。

次の観察結果を得た。(1) Thyは, 5-FUの高用量域で, 小核の出現を顕著に抑えるが, 低用量域では逆に増加させる。(2) dAMPは, 5-FUによる小核の出現を増加させる。(3) dGMPは, 5-FUによる小核の出現にほとんど影響を与えない。これらの結果は, 「生体内においても, 核酸前駆体プールの不均衡が染色体障害の誘因となる」という作業仮説を支持する。

O-32 DNA修復とトランスフォーメーション誘導

○田中憲穂¹, 佐々木澄志¹, 山影康次¹

(¹食薬安全セ・秦野研・細胞生物)

DNA 傷害に起因して生じる突然変異や染色体異常の生成は, 初期傷害の修復モードによりその異常のタイプや頻度が異なることが知られている。本実験では, イニシエーション過程での修復阻害が細胞の癌化とどのように関わっているかを主にBALB/3T3細胞を用いるトランスフォーメーション(形質転換)の系を用いて調べた。

BALB/3T3細胞にイニシエーターとして3-methylcholanthrene(3MC)を, DNA修復阻害剤としてara-C, aphidicolin(APH), 3-aminobenzamide(3AB), novobiocin(NB)などを処理し, 形質転換, 突然変異, 染色体異常などの誘発を調べた。

その結果, 用いた修復阻害剤はいずれも単独処理ではコロニー形成や形質転換を起こさない濃度で3MCによる形質転換の誘発を増強した。また, 3MC + ara-C, 3MC + APHなどの処理群に, 更にNBを処理すると形質転換は抑制される傾向がみられた。これらの結果より, DNAの初期傷害の修復阻害により染色体異常の頻度が高まるだけでなく, 形質転換にも影響を及ぼすことが明らかにされた。また, ara-Cによる形質転換の増強作用がNBにより抑えられることから, 両薬剤はそれぞれ異なる作用点でDNA切断から再結合の修復過程に作用している事が考えられる。

O-33 ヒト・リンパ芽球様細胞のアデニン・フォスフォリボシルトランスフェラーゼ(APRT)座位における自然突然変異

○巽 絃一, 立花 章, 藤森 亮, 有田 泉, 法喜ゆう子, 武部 啓(京大・医)

APRT欠損症(2,8ジハイドロキシアデニン尿路結石症)保因者由来のリンパ芽球様細胞WR10を利用し, 2,6ジアミノプリン抵抗性(DAP^r)を指標として第16番染色体長腕のAPRT座位における突然変異頻度を測定する検定系を開発した(第17回本大会)。DAP^rの自然突然変異頻度は $\sim 2 \times 10^{-5}$ で6・チオグアニン抵抗性(TG^r)変異に比べ, 約10倍高かった。彷徨試験によって求めた自然突然変異率(頻度/細胞/世代)はLuria-Delbruckの式(4)によると平均 121×10^{-9} で, これまでに測定したTG^rの値, $7.86-30.6 \times 10^{-9}$ (TK6)および 7.14×10^{-9} (XP7NI), よりはるかに高率で, 平板効率を勘案したCapizzi-JamesonのMean methodでもWR10のDAP^rは平均 16.5×10^{-7} で, TK6のTG^r0.2~1.2 $\times 10^{-7}$ より高値であった。WR10細胞ゲノムDNAを制限酵素SphIで切断し, APRTcDNAをプローブとしてSouthern blottingを行うと, 8kbと12kbの2本のbandが認められ, WR10はRFLPに関しても異型接合体であった。リクローンした8個の自然DAP^r変異体ではすべて12kbのシグナルが消失しており, APRT遺伝子(2.3KB)を含む大きい欠失あるいは組換えが示唆された。APRT座位における自然突然変異は大きなDNA構造変化に由来する比率(8/8)が, X染色体上のHPRT座位の場合(TK6で5/17)より高く, ヒト体細胞常染色体における対立遺伝子喪失の重要性が推察された。

O-34

鉄ニトリロ三酢酸腹腔内投与によるラット腎の8-ハイドロキシデオキシグアノシン(8-OH-dG)の生成

○梅村隆志, 佐井君江, 高木篤也, 長谷川隆一, 黒川雄二(国立衛試・毒性)

最近, 酸素ラジカルによるDNA損傷の一つである8-OH-dGの生成と発癌との関連が指摘され注目を浴びている。我々は, 第17回本学会において, 非変異原性を示す腎発癌剤であるp-Dichlorobenzene(p-DCB), Fe-nitrilotriacetate(Fe-NTA)および2,2,4-Trimethylpentane(TMP)をラットに投与すると, 腎8-OH-dGレベルの上昇傾向が認められることを報告した。

そこで今回, この3物質の中でその発癌メカニズムに酸素ラジカルの関与が最も強く疑われるFe-NTAについて, 更に詳しい検討を行ったので報告する。

実験は, 1群6匹の生後6週齢雄WistarラットにFe-NTA(15mgFe/kg), Al-NTA(7mgAl/kg), FeCl₃(15mgFe/kg)およびNa₂NTA(252mg/kg)をそれぞれ単回腹腔内投与し, 1, 3, 6 および24時間目に腎臓中の8-OH-dGを測定した。その結果, Fe-NTA投与群の1, 3, 6 および24時間目で, 生理食塩水を投与した対照群に比して有意の上昇が認められた。一方, その他の群では著変は認められなかった。

以上の結果は, Fe-NTA投与による腎発癌に活性酸素の関与の可能性を強く示唆するものであり, また, その発癌過程におけるFeイオンとNTAの協調作用の必要性を示している。

P-1

緑茶成分、紅茶、および烏龍茶の
TPA阻害作用

○栗原敬子¹、大室弘美¹、神沼二真²
(¹ 東京都臨床研、² 国立衛生試験所)

線虫 *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) は発癌プロモーターであるTPA によって運動および成長が著しく阻害され、産子数 (F_1 の数) が低下する。我々はこれらのTPA による障害がglycyrrhetic acid や緑茶などの TPA 阻害剤の添加によって回復することを報告し、*C. elegans* の産子数を指標とした TPA阻害剤の新しいスクリーニング系を提案した。

今回は、マウスの皮膚や培養細胞の系で TPA 阻害作用の報告されている緑茶成分 (epigallocatechin gallate (EGCG)、catechin、n-propyl gallate) および紅茶について本系でスクリーニングを行ない、他の系の結果と比較した。また、新たに烏龍茶の TPA阻害作用の有無を調べた。

紅茶および烏龍茶は熱湯抽出物 (粗粉末茶葉5g/沸騰水100ml、5分間) を培地に13% 加えた。緑茶成分は最終濃度 10^{-3} Mを用いた。TPA と被検物質を含む培地で*C. elegans* を育て、TPA阻害作用を調べた。

その結果、n-propyl gallateは TPA阻害効果を示さなかったが、EGCG、catechin、および紅茶が各、約52%、14%、65%の TPA阻害効果を示し、他の系で得られた TPA阻害効果との相関がみられた。烏龍茶は約48%の TPA阻害効果を示し、緑茶や紅茶と同様に TPA阻害作用を有することが明らかになった。

P-2

天然着色料の Liquid Rec-assay

○野中美智子 (九大農)

サルモネラ菌によるAmesテストが復帰変異試験であり、それぞれの株が反応を示す変異原の作用特性が限定されるのに反し、枯草菌によるRec-assayでは不特定のDNA損傷の有無を検出することがそれらの大きな相違であり、すべての変異原や発癌因子を造るDNA損傷はRec-assayによって感受されると考えられる (賀田、1985)。事実、著者は、Amesテストが陰性の合成食品添加物18種について Rec-assayを生残率比較法 (反応時間は30分、-S9) で実施した結果、すべて陽性であった (第5回 ICEM、1989)。一方、天然食品添加物 (着色料) のビートレッド、カカオ色素、ベニバナ黄色素、コチニール色素、コーン色素、クチナシ黄色素、グレープスキン色素、モナスカス色素は、Amesテストあるいは培養細胞染色体異常試験で陽性であったが、Rec-assayを枯草菌胞子細胞によるプレート拡散法 (胞子法) で実施した結果、最高用量においてもH17およびM45の両菌に対して何ら生育阻害効果を示さなかったため、未確定陰性と判定された (石橋ら、1985)。そこで、著者は、上記の天然着色料およびアナトー色素について Rec-assayを増殖細胞による液体法 (-S9) で実施した。その結果、いずれもH17に対する生育阻害の最小濃度がM45のそれに比較して1段階高く、しかも食品への通常使用濃度に近かった。従って、今回検定した9種の天然着色料はすべて、食品への添加率に近い濃度で弱いDNA損傷活性を示すことが明らかとなった。また、クチナシ黄色素等の天然色素について Spore Rec-assayを、通常使用濃度の100~250倍量で実施しても未確定陰性であった (上野ら、1983) ので、Liquid Rec-assayは優れたDNA損傷性試験であると考えられた。

P-3 トウガラシと辛味成分 Capsaicin, Dihydrocapsaicin の変異原性の検討

○Usanee Vinitketkumnuen*, 笹川千晶, 松島泰次郎 (東大・医科研・癌生物)

トウガラシは香辛料として広く世界で使用されている。トウガラシの抽出物とその辛味成分である Capsaicin, Dihydrocapsaicin の変異原性をサルモネラ変異原性試験で検討した。

トウガラシは *Capsicum annum* の 5 標品と *Capsicum frutescens* の 1 標品のメタノール抽出物について, TA98, TA100 を用いて ±S9mix で調べたが, *C. annum* の 1 標品が TA98, +S9mix で弱い変異原性を示した以外は, 他の 5 標品は陰性であった。

市販の精製 Capsaicin 3 標品と Dihydrocapsaicin 1 標品は, TA98, TA100, TA1535 を用いて ±S9mix で調べたが, 総て陰性であった。また, 市販の合成 Capsaicin も陰性であった。トウガラシ抽出物より HPLC で分離した Capsaicin, Dihydrocapsaicin 分画も TA98, TA100 に陰性であった。弱い変異原性を示したトウガラシの抽出物は, Capsaicin よりも早く溶出する位置に変異原性を示した。トウガラシおよびその辛味成分 Capsaicin, Dihydrocapsaicin には変異原性はないと考えられる。

*Dept. of Biochem., Facul. of Medicine
Chiang Mai University, Thailand

P-4 インドール誘導体の亜硝酸処理による変異原の生成

○笹川千晶, 松島泰次郎 (東大・医科研・癌生物)

tyrosine と tyramine は酸性で亜硝酸処理によりサルモネラ TA98, TA100 に変異原性を示すことが報告されている。

アミノ酸 (tyrosine, tryptophan, histidine) とその脱炭酸により生ずるアミン (tyramine, tryptamine, histamine) の 50mM を 亜硝酸 500mM と pH3 で 1 時間反応し, サルモネラ TA98, TA100 で変異原性の発現を調べた。

tyramine と tryptamine は強い変異原性を, tyrosine, tryptophan は弱い変異原性を示したが, histidine, histamine は変異原性を示さなかった。

そこで, tryptophan の代謝に関連したインドール化合物を 10mM 濃度で亜硝酸 100mM と pH3 で 1 時間反応し, TA98, TA100, 大腸菌 WP2uvrA/pKM101 を用いて変異原性の発現を調べた。

indole-3-acetonitrile と indole-3-pyruvic acid は強い変異原性を示し, indole-3-acetaldehyde, indolyl acetate はいずれかの菌株で弱い変異原性を示した。一方, indolelactic acid は変異原性を示さなかった。

tryptophan の代謝物が, 生体内で変異原物に転換する可能性が示唆される。

P-5 玄米の亜硝酸処理で生成する変異原物質

○早津聰子, 早津彦哉 (岡山大・薬)

食べ物の成分が亜硝酸と反応して変異原物質を生成する顕著な例はニトロサミン類である。一方, 日本人に胃がんが多い原因として, 日本人特有の食習慣が考えられて来ている。若林ら (国立がんセンター) はしょう油の亜硝酸処理で直接変異原物質が生成することを示した。われわれは, 炊飯を亜硝酸処理するとブルーレーヨン吸着性の直接変異原 (*Salmonella typhimurium* TA100 および TA98) を生ずることを見出している (1989 年癌学会総会)。今回, 玄米を同様に処理すると, より高い変異原生成が見られたので報告する。玄米を圧力がまだ炊き, 水を加えてブレンダーでかゆ状にした後, 50mM NaNO₂, pH3.0 で 37°C, 1 時間処理した。アセトンを加えて抽出物を作りブルーレーヨン吸着した。この吸着物は *S. typhimurium* TA100, -S9 で 1700His⁺コロニー / 5g 生米の値を示した。これは白米の場合に比べて約 4 倍の活性である。この粗生成物をブルーレーヨンに再吸着したところ, 変異原性の 85% が回収された。このことからこの変異原物質は多環性化合物であると思われる。HPLC によって分離したところ少くとも 3 種の変異原物質が生成していることがわかった。玄米を精米機にかけて米ぬか部分と米粒とに分離した (重量比, 約 1:10)。それぞれを炊いた後, 亜硝酸処理し, ブルーレーヨン吸着物の変異原性 (TA100) を調べたところ, 単位重量当りの活性比は, 米ぬか / 米粒 13:1 となり, 変異原前駆体が米ぬかに多く含まれていることがわかった。

P-6 調理食品の突然変異原性について [X] 焼き魚の変異原性に及ぼす焼き油および調理法の影響

○村岡 知子, 久岡 祥子
(山陽学園短期大学・食物栄養)

動物性タンパク質特に, 牛, 豚, 鶏肉などの焼き肉の変異原活性に及ぼす焼き油の影響について検索し報告してきたが, 今回は, 調理した魚の変異原活性が, 調理に際して用いた油にどのような影響を受けているかを検索し, 脂質の変異原活性との関連を探っている。

焼き肉の場合, 不飽和脂肪酸含量が高く, しかも精製度の高いサラダ油を用いることが変異原活性を低く抑えたが, 飽和脂肪酸含量の高いラードではその活性が, 非常に高まることを報告した。

素焼き魚の場合, その変異原活性は脂肪酸含量は 2.9% と低いにもかかわらず, 飽和脂肪酸の含量が多価不飽和脂肪酸含量よりも多いマナガツオでは, 脂肪含量は 13% と高く, 脂肪酸組成も逆の傾向を持つハマチに比べて数倍高い値を示す。

脂肪含量の低いマナガツオを用いて調理油と変異原活性生成の関係を, 飽和脂肪酸の含量と多価不飽和脂肪酸含量の混合比等から検索し, また対象として昨今特に多価不飽和脂肪酸摂取との関係で, 注目されている魚を, 加熱調理した際の過酸化物質と変異原活性の関係を検索して報告する。

活性の測定は, 前法に従い青綿抽出による活性をサルモネラ菌 TA98 (+S9) により行なった。

P-7 ノルハルマンの染色体異常誘発性

○佐藤英郎, 松田克子, 飯島肇, 河原隆, 高橋正宣 (株式会社エスアールエル)

トリプトファンの加熱分解物であるノルハルマンは Ames 試験において、それ自身に変異原性は認められないが DAB, B(a)p などの変異原性を強める Comutagen として知られている。我々はこのノルハルマンについて染色体異常試験を実施したので報告する。

細胞には CHL を、培養液には MEM+10%CS を用い直接法 (24時間、48時間処理)、および代謝活性化法 (+/-S9 Mix 6時間処理、18時間培養) について常法に従い試験を実施した。

直接法では構造異常誘発性は弱い、代謝活性化法では +/-S9 Mix ともに明らかな構造異常誘発性を認めた。(0.1~0.15mg/ml, 10~20%) 倍数体はいずれの方法でも 10%前後認められるが、+S9 Mix では核内倍化がその中に 5%程度出現することが特徴である。また、B(a)p と同時に処理をすると B(a)p の構造異常誘発性の増強が認められるが、詳しく検討中である。

P-8

MelQx による DNA 付加体の生成: 投与量と付加体生成量の相関性

○広瀬美砂子, 高山京子, 若林敬二, 杉村 隆, 長尾美奈子 (国立がんセンター研究所・発がん研究部)

加熱食品中に含まれる変異原・がん原物質である 2-Amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MelQx) を 0.4~400ppm の濃度でラットに 3ヶ月間投与すると、MelQx 濃度に依存して肝臓 DNA の付加体量が上昇する。今回、0.1、0.4、8、及び 400ppm の MelQx を 40 週間ラットに投与し、各臓器における DNA 付加体の生成を経時的に検討することにした。

各濃度の MelQx は基礎飼料 (CE-2) に混入して、雄 F344 ラットに連続投与した。MelQx-DNA 付加体はヌクレアーゼ P₁ を用いた ³²P-ポストラベル法により分析した。解析した各臓器の DNA からは全て 3 種類の DNA 付加体が検出され、臓器特異性は認められなかった。肝臓、脾臓及び大腸における DNA 付加体レベルは、0.4ppm 4週間投与群で 10⁷ 正常ヌクレオチド当たり、各々 0.92、0.31 及び 0.01 であった。現在 12 週まで解析を行ったが、これらのレベルは MelQx の投与濃度、及び期間に依存して増加していた。

P-9

ヒト肝臓における aflatoxin-DNA 付加体の生成

○高山京子¹, 若林敬二¹, C.Z.Lee², D.P.H.Hsieh³, 杉村 隆¹, 長尾美奈子¹ (¹国立がんセンター研究所・発がん、²台湾大医、³カリフォルニア大 環境毒性)

変異原性マイコトキシンの aflatoxin B₁ (AFB₁) は、ラットに対する最も強力ながん原物質の一つで、これによる輸入穀物や家畜飼料などの汚染が指摘されている。AFB₁ は、IARC によってヒトのがん原物質として認められたが、ヒトにおける曝露量などなお不明の点も多い。そこで、ヒト肝臓の aflatoxin 曝露量を DNA 付加体の生成量として、抗体を用いた ELISA 法で測定した。検体には、日本人および汚染度の高い食品を摂取していると考えられる台湾の住民の肝臓を用いた。その結果、日本人 (12人) の肝臓から得た DNA 中の付加体生成量は、10⁶ nucleotides あたり 1-5 個、台湾の住民 (15人) の肝臓の DNA 中の付加体生成量は 1-20 個であった。これらの結果は台湾だけでなく、食品中の aflatoxin 類の規制 (20 ppb) の行われている日本においても人体が aflatoxin 類によって曝露されている可能性を示唆している。また、これらの付加体の生成量は、発がんレベルの MelQx (0.04%) を雄 F344 ラットに連続投与したときに得られる肝臓中の MelQx の DNA 付加体の生成量 (10⁶ nucleotides あたり 6.1 個) と同程度であることから、aflatoxin 類がヒト肝臓がんの環境要因の一つである可能性が予想される。現在更に ³²P-ポストラベル法により、aflatoxin-DNA 付加体の確認を行っている。

P-10 下水処理水中の Blue rayon 吸着変異原物質の HPLC による分離

○阪本 博, 早津彦哉 (岡山大・薬)

【目的】 Blue rayon 法により、水域環境からの変異原物質の回収を簡単に行うことが可能である。この方法を用いた淀川水系河川水の変異原性調査により、淀川水系における変異原物質の主要な汚染源が、桂川流域に位置する下水処理場からの処理放流水にあることがわかった。そこで、blue rayon 法によって濃縮した下水処理水中の変異原物質の HPLC による分離を試みた。

【方法】 変異原物質の回収方法および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、シリカゲル薄層プレートを用いメタノール-クロロホルムによる展開分離を行った。薄層プレート上の変異原活性の高い部分 (Rf 0.35-0.85) をかき取り、メタノール抽出を行い、この抽出試料について逆相カラムを用いた HPLC による分離を行った。

【結果及び考察】 HPLC による分離により、この下水処理水中には少なくとも 4 種類のフレームシフト型間接変異原物質が存在することが明らかとなった。この分離した変異原物質について blue rayon による再吸着実験を行ったところ、これらの変異原物質は水溶液中において blue rayon に吸着されることが確認された。このことから、これらの変異原物質は 3 環以上の縮合芳香環を構造に持つ物質であることが強く示唆される。しかし、多環性変異原物質として既に知られている 15 種類の物質 (benzo(a)pyrene, chrysene, IQ, MeIQ, MeIQx, anthracene, Trp-P-1, Trp-P-2 etc.) との比較では該当するものはなく、未知の変異原物質である可能性がある。

P-11 塩素、オゾン処理生成物のumuテストによる変異原性

○小野芳朗、宗宮 功、河村正純(京大工)

SOS修復を示すumuテストを水の塩素処理あるいはオゾン処理による副生成物と考えられている化学物質について適用した。試験菌株 *S. thyphimurium* TA1535/pSK1002と被験物質との反応時間を常法により2時間とした場合、陽性を示したものは以下の物質であった。

①塩素処理; m-ジクロロベンゼン、ジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸、クロラール(以上S9+)、m-ジクロロベンゼン、1,2,4-トリクロロベンゼン、ブロホム(S9-)

②オゾン処理; ホムアルデヒド、ホルムアルデヒド、グリキサル、フルアル、アクリン(以上S9+)、ホルムアルデヒド、グリキサル、イソ(S9-)

一方、試験菌株と被験物質との反応時間を2~24時間と長時間とり経時的に採水して観察した場合、umu遺伝子の発現や菌体増殖が反応2時間以降に増加することが示された物質が確認できた。以下にその物質を示す。

①塩素処理; m-ジクロロベンゼン(S9-, S9+)、1,2,4-トリクロロベンゼン(S9-, S9+)、ブロホム(S9-, S9+)、クロロム(S9-)

②オゾン処理; アセチルアセトン(S9+)、グリキサル(S9-, S9+)、イソ(S9+)

これらの化学物質によるumu遺伝子発現や菌体増殖の遅れは、化学物質のDNA損傷の速度に差があることや、あるいはDNA損傷とそれに伴う修復機能のために菌体の増殖が阻害されているためと考えられる。

P-12 Mutagenic Screening of the Active Components of Fluorescent Humic Substances in Artesian Well Water of Black-foot Disease Endemic Area in South-western Taiwan

○洪清霖(台北醫學院・公衛)
呂鋒洲, 呂明芬(台灣大醫學院・生化)
清水英佑(慈恵醫大・公衛)

We have noted the positive mutagenic properties of fluorescent substances condensed from artesian well water of blackfoot disease(BFD) endemic area in Taiwan since 1986. And this finding was also matched with the etiological concern about a high bladder cancer prevalence at that area. Nevertheless, these rough observations should be further investigated on the striking mutagenic evidences of the active fluorescent components in order to conform whether those epidemiological clues is really existed.

We set up a fractionation system to purify the complicated fluorescent compounds from the well water. The crude condensed residue which was obtained from concentration, acidification and filtration of raw water was extracted by a series of organic solvents. We detected out the most mutagenic fraction of ethyl acetate(Part EA2) with the mutagenicity potency of 2.72 & 2.74 net His+ revertants/ug on Salmonella tester strains TA 98 & 100 for -S9 and 1.42 & 1.76 those for +S9 respectively.

From chemical analyses by IR, GC-Mass, AA and HPLC, EA2 fraction is composed of di-(2-ethyl hexyl)phthalate(:DEHP), arsenic and two not yet identified mutagenic components distributed at the retention time of 0-10 minutes of the HPLC effluent. What are these mutagenic compounds is still under studied.

P-13 ラット骨髄細胞によるトリハロメタンの変異原性

○藤江喜美子¹, 青木豊明² (¹大阪女子大,
²大阪府大工)

原水の水質汚濁の進行に伴い、殺菌剤としての塩素注入は、自然界由来のフミン酸などとの反応により、トリハロメタン(THMs)を生成する。THMsのうち、 CHCl_3 と CHBr_3 は実験動物について発ガン性が示されているが、in vivoにおけるTHMsの変異原性に関する情報は極めて少ない。我々はラットの骨髄細胞を用いて CHCl_3 、 CHCl_2Br 、 CHClBr_2 及び CHBr_3 の変異原性を検討した。

試料溶液の濃度はTHMsの各々の飽和溶液を作成し、島津GC-4Bガスクロマトグラフィー(SE-30, 60°C)を用いて決定し、生理食塩水を加えて随時希釈した。

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

腹くう内投与の結果、染色体異常頻度は4化合物ともに投与12時間後にMax.を示し、24時間後に対照値に復した。 CHCl_2Br を除いて、量-反応関係が得られた。

経口投与は24時間毎に5回繰り返し、最終投与の6時間後に染色体標本を作成した。腹くう内投与と同様に CHCl_2Br を除いて、対照値との間に有意差を得た。

作用時間による反応の変動を検討した結果18時間でMax.となり、24時間でほぼ対照値に戻った。

P-14 ダイオキシンのキイロショウジョウバエに対する突然変異原性検出の試み

○竹森 洋¹, 古賀克己¹, 増田義人² (¹九大農,
²第一薬科大)

2,3,7,8-テトラクロロジベンゾ-p-ダイオキシン(TCDD)は合成化合物の中では特に毒性が著しいものの一つであると考えられている。しかし、この化合物は生物種によって毒性が大きく異なるだけではなく、毒性発現機構も明瞭ではない。催奇形性や発癌性に関しても知見が不足している。今回はTCDDの突然変異原性に着目し、そのin vivoでの検出を試みた。

遺伝学的背景の豊富なキイロショウジョウバエを用い、検出感度の高い体細胞変異に基づく翅毛スポットテスト系(mwh/flr)とDNA修復試験系(meio⁹ meo⁴¹)を適用して試験を行った。

2つの系による結果はネガティブであった。また、死亡率と生育遅延効果も検討したが、双方とも対照との有意差は認められなかった。ショウジョウバエはおそらくTCDDに鈍感な生物と考えられる。本実験の結果は生物種に於けるTCDDの毒性のばらつきを説明するのに重要であろう。

P-15

大気中粒子状物質の変異原性(第3報)

○真鍋 芳樹, 朝倉 正登, 後藤 敦,
実成 文彦, 中嶋 泰知
(香川医科大 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, 溶媒溜去後試料とした。

Ames法を用いた変異原性の結果は昨年度報告した。すなわち, 月別の変異原性は大きく変動しており, 中性・酸性・塩基性画分の変異原性は, 中性画分が最も変異原性が強かった。また中性画分のTA98(-)S9とTA100(-)S9, TA98(+)-S9とTA100(+)-S9との間には有意の正の相関($r=0.85$, $r=0.78$)が認められた。

そこで, 今回は中性画分に分画される直接変異原物質の指標として, 1-nitropyrene(1-NP), 1,6-dinitropyrene(1,6-DNP), 1-nitro-3-acetoxy-pyrene(1,3-NAcOP), 間接変異原物質の指標としてbenzo(a)pyrene(B(a)P)を定量した。Nitroarene類は液クロを用いてon column還元法により生じたaminoareneの蛍光強度から定量した。

中性画分中の各物質質量(ng/mg)は1-NP 2.6~79.9, 1,6-DNP 1.6~7.3, 1,3-NAcOP 1.2~19.3, B(a)P 98~608であり, 変異原性への各物質の寄与率はそれぞれ0.06~1.76, 11.9~28.1, 1.3~18.7, 0.87~3.20%であった。また, 1-NPと1,6-DNP量との間には有意の正の相関($r=0.91$)が認められた。さらに, 1-NP, 1,6-DNP, B(a)Pは冬に濃度が高くなっていたが, 1,3-NAcOPは春に濃度が高くなっていた。

P-16

寒冷地における大気浮遊粉塵の変異原活性—季節変動及びPAH, 1-NPとの関連—

○松本 寛, 中島敏秋, 酒井茂克, 秋山雅行
(北海道公害防止研究所)

寒冷地である札幌市において大気浮遊粉塵を長期にわたり採取し, その変異原活性の季節変動, 気温や燃料消費量, PAH, 1-NPとの関連について検討を行なったので報告する。

方法 浮遊粉塵は, 1986年, 1987年の2年間, 毎月5日間住宅地においてHi-volサンプラで, また1987年9月から1988年12月までの毎月15日(30日)間住宅地及び幹線道路端においてLo-volサンプラで, それぞれ石英フィルター上に捕集した。超音波抽出して得られたタールを検体として, *S. typhimurium* TA100及びTA98株を用い, S9mix添加, 無添加の両条件下で変異原性試験(Ames-test)を行なった。

結果 単位空気量当りの変異原活性は, いずれの試験条件下についても冬, 秋(春), 夏の順に大きく, 夏と比べて冬は4~6倍の値を示した。変異原活性とPAH, 1-NPの間には極めて強い正の相関関係がみられた。変異原活性と気温との間では, 10℃以下の暖房期に強い負の相関がみられるのに対して, 15~20℃の非暖房期における変異原活性はほぼ一定の値を示した。BaPの全変異原活性への寄与率は, 冬を中心に高く夏を中心に低い季節変動を示し, TA98株では0.3~2.0%, TA100株では0.7~4.5%の範囲にあった。

P-17

室内及び室外汚染物質中に含まれるニトロアレーンの同定

○世良暢之¹, 甲斐麻美子¹, 堀川和美¹,
常盤 寛¹,
(¹ 福岡衛公センター,

【目的】 灯油ストーブや都市ガス燃焼物は変異原物質を生成し室内を汚染する可能性がある。変異原の主成分は芳香族炭化水素やニトロアレーンであるが, 主要な変異原物質について大気汚染物質と比較検討した。

【方法】 室内汚染物質としては灯油ストーブと都市ガスを選び, 室外は札幌市の大気を選んだ。室内燃焼生成物及び大気粒子状物質はXAD-2樹脂またはシリカファイバーフィルター上に捕集した後, 超音波抽出, 液-液分配, シリカゲルカラムクロマトグラフィーで分画し, HPLC及びGC-MSで分析を行った。

【結果と考察】 灯油ストーブの燃焼生成物中には, 粒子状物質あたり, 1-NPが8.7 µg/g, 1,3-, 1,6-, 1,8-DNPがそれぞれ1.8, 1.2, 0.08 µg/g, 3-NFが3.2 µg/g, 3,7-DNFが0.14 µg/g検出された。都市ガスの燃焼生成物中には, 1-NPが0.057 µg/g, 1,3-, 1,6-, 1,8-DNPがそれぞれ0.019, 0.01, 0.002 µg/g検出された。大気粒子状物質からもDNP, DNFが4-10 pg/m³検出され, 2-NFは0.16 ng/m³であった。また, B(a)Pを含めた11種の芳香族炭化水素についても室内及び室外で比較検討した。これらの結果より, 灯油ストーブ燃焼物は都市ガス燃焼物や大気粒子状物質より高濃度にニトロアレーンに汚染されており, 主たる室内汚染源であると考えられる。

P-18

大肺組織からのニトロアレーンの検出例

世良暢之¹, 甲斐麻美子¹, 堀川和美¹,
○常盤 寛¹, 中島明雄² (¹ 福岡衛公
センター, ² 済生会下関総合病院)

【目的】 芳香族炭化水素やニトロアレーンは大気及び室内汚染物質の主要原因物質である。今回明瞭な珪肺症を呈する肺癌患者の肺組織から変異原物質を検出したのでその結果を報告する。

【方法】 本症例(64歳, 男性, 養鶏業, 非喫煙者)は, 右下肺葉にへん平上皮癌とシリコーシスによる慢性肉芽腫性リンパ節炎及び肺動脈の外周性狭さくによる肺高血圧症を合併し, 前者の肺癌の摘出除去のために右肺全摘出術を施行した例であった。そこで肺組織の一部を超音波抽出し, 変異原物質の分析, 同定を試みた。

【結果と考察】 手術後の肺, 気管及び気管支は著明な炭粉沈着が認められ, 肺の組織学的所見ではへん平上皮癌が確認された。人肺試料をHPLCで分画精製すると, 3つのピークが認められ, GC-MSにより肺重量1gあたりそれぞれ1-NPが7.5 ng/g, 1,3-DNPが6.5 ng/g及びクリセンが1.8 ng/g同定された。この3種の変異原物質はいずれも動物に対して発癌性が確認されているニトロアレーン及び芳香族炭化水素であるが, その代謝物は検出されなかった。本患者では暴露源としての明かな職業歴を有しておらず, 住居・周囲環境にも粉塵源となり得る明確なものは認められなかった。以上の結果から, ニトロアレーンの検出は必ずしも肺癌発生の要因であるとは結論できない。

P-19

ニトロアレーンの代謝活性化

○平山晃久, 井口和彦, 渡辺徹志
(京都薬大)

Nitroarene類はS. typhimuriumを用いるAmes法においてdirect mutagenであることはよく知られている。今回は18種のbiphenyl(Bp), fluorene, phenanthreneおよびpyrene(Py)ニトロ誘導体についてrat肝より調製したS9の有無における変異原性試験をTA98を用いて行ったところ、興味深い結果が得られたので報告する。

10% S9添加により活性の著しく低下した化合物は、発癌物質としても知られている1-NO₂-Py (+S9/-S9= 6%)および1,3-diNO₂-Py(0.4%)であった。逆に代謝活性化された化合物群は、我々が検討して来ているnitrobiphenyl(NBp)で4-NBp(2.4倍), 2,4-DNBp(1.6倍), 4,4'-DNBp(1.4倍), 2,4,2'-TNBp(1.2倍), 2,4,3'-TNBp(2.1倍), 2,4,2'-TNBp(1.2倍), 2,4,6-TNBp(60倍)および2,4,2',4'-TNBp(13倍)であった。興味深いのは2,4,6-TNBpで-S9では3 net rev./10μgと活性を示さないにも拘わらず、+S9では181 net rev.と活性を示した。今回の実験で最も活性化化合物は、TA98のみならずTA98NRに対しても活性化2,4,2',4'-TNBpで10436 net rev./0.5 μgであった。

さらに、S9をS100およびmicrosomeに分け活性を検討したところ、2,4,6-TNBpはS9のみでしか活性を示さなかった。また、4-NBpおよび2,4,2',4'-TNBpについてはS100で活性が維持された。環境汚染物質であるnitroarene類の毒性を評価する場合、肝臓において無毒化されるものより代謝活性化される化合物が重要と思われる、その哺乳動物細胞における毒性評価も今後検討する。

P-20

3-ニトロジベンゾフラン(3-NDBF)と3-アミノジベンゾフラン(3-ADBF)の変異原性

○宇野由利子¹, 松下秀鶴², 植弘崇嗣¹, 安原昭夫¹, 森田昌敏¹, (1)国立公害研, (2)国立公衆衛生院)

ジベンゾフランはクレオソートオイルやコールタールの成分であり、我々をとりまく環境中にしばしば検出される。ジベンゾフランの変異原性はないが、それをニトロ化、アミノ化した誘導体の変異原性に関する報告はまだない。焼いたソーセイジからすでに検出されている3-NDBF、発癌性が報告されている3-ADBFの変異原性を調べることは重要である。そこで我々は、この2物質の変異原性を調べるために、サルモネラTA98とTA100の2株を用いてAmes Testを行った。3-NDBF, 3-ADBFの両物質には強い変異原性がみられた。3-NDBFの変異原性はTA98, TA100の両株でみられ、S9(-)でも強い変異原性を示すことから、直接変異原であることがわかった。変異原の強さはTA98においてベンツピレンの約4.6倍、TA100においてその約2倍であった。3-ADBFの変異原性はS9(-)では、TA98, TA100の両株ともみられないのに対し、S9(+)では、両株とも強い変異原性がみられ、代謝活性化と関係があることがわかった。変異原の強さはTA98においてベンツピレンの約13.7倍、TA100においてその約5.5倍であった。3-NDBFでは、S9(+), S9(-)の両方で殺菌作用がみられた。

P-21

カルバゾールと二酸化窒素等との反応生成物の変異原性

久松由東, 松下秀鶴 (国立公衆衛生院)

太陽光のもと、大気浮遊粒子状物質中に含まれる有機化合物とガス状窒素酸化物との、大気浮遊粒子表面での反応による変異原性物質の生成について検討を加えて来た。ピレンと二酸化窒素との光化学反応では、1-ニトロピレン、1,3-, 1,6-, 1,8-ジニトロピレンが生成することを認めた。今回は、化石燃料の不完全燃焼等により生成するアザヘテロ環式化合物のカルバゾールと二酸化窒素(NO₂)との光化学反応生成物の変異原性について検討した。カルバゾールとNO₂との反応は、ピレン等の多環芳香族炭化水素とNO₂との反応と同様に、光照射によって促進され、反応生成物の変異原性は、TA98, TA1538菌株、-S9 mix条件のもと、6時間の光照射で、1581, 1660 revertants/μg (光無照射、NO₂とSO₂の混合ガスと24時間反応させた時、TA98, -S9 mix条件のもと、406 revertants/μg)であり、また他のアザヘテロ環式化合物、アクリジン、フェナジンとのそれより、はるかに高かった。SO₂の添加効果は認められなかった。カルバゾールとNO₂の光化学反応生成物を抽出し、分取型高速液体クロマトグラフを用いて分離、分画し、各画分の変異原性試験及びGC/MSにより分析した結果、モノニトロ及びジニトロカルバゾールが検出された。モノニトロカルバゾールの含まれる画分の変異原性は低い、ジニトロカルバゾールの含まれる画分の変異原性は高い。この画分にはピフェニル等数種の化合物が含まれており、これら化合物の分離、分取並びに構造について検討している。

P-22 室内空気浮遊粒子の変異原性及び多環芳香族炭化水素濃度

—川崎市及び香港の一般家庭試料の比較—

松下秀鶴¹, ○高木敬彦², 後藤純雄¹, 村田元秀², 富永祐民³, C.T.Kuo⁴ (1)公衆衛生院, (2)麻布大学, (3)愛知県がんセンター, (4)中国医薬学院)

目的) 室内空気中の癌(変異)原物質の実態把握の一環として、川崎市及び香港の家庭で室内空気を吸引して浮遊粉じんを採取し、その変異原性を調べると共に、癌(変異)原性関連の多環芳香族炭化水素(PAH)7種の測定を行った。

方法) 室内空気試料の採取は低騒音サンプラーを用い、20l/minの流量で24時間空気吸引し、その中の浮遊粉じんを石英繊維フィルターに捕集する方法で行った。捕集した粉じん中の有機成分の抽出はベンゼン-エタノール(3:1, v/v)を用いる超音波抽出法で行った。変異原性試験はultramicro forward-mutation法で行い、PAHの分析は高速液クロ・分光けい光法で行った。

結果) 両都市とも、同一家庭の変異原活性でも試料採取日により比較的大きな変化を示すことや、一般に喫煙がなされている室が高い変異原性を示すことを認めた。また、測定例が少ないので明確なことは言えないが、非暖房期での両都市の家庭内の変異原性はほぼ同程度と推定された。PAHの室内濃度も同様に喫煙室で高い傾向にあることや、日変動が比較的大きいことが認められた。両都市間の比較では川崎市の方が若干高い値を示した。

P-23 Ultramicro forward-mutation法による個人曝露空気試料の変異原性測定

○高橋義一¹、後藤純雄²、高木敬彦³、石井忠浩¹、Joellen Lewtas⁴、松下秀鶴² (¹東京理科大、²国立公衆衛生院、³麻布大、⁴U.S.EPA)

(目的) 癌一次予防対策の観点から、環境変異原物質に対する個人曝露の実体を把握することは、重要である。経気道個人曝露評価手法としては、個人生活が多用化してきている現在、個人曝露により得られた空気浮遊粉じん試料を用いる評価方法が最も望ましい。しかし、個人曝露により得られる粉じん試料は数十 μg と極微量のため、その変異原性計測には超高感度化が必要である。本研究では、昨年度の本学会に報告した高感度のultramicro forward-mutation法を用い、若干の個人試料に適用したのでその結果を報告する。

(方法) 試験菌株には、*S. typhimurium* TM677株を用いた。変異原性試験は、8-アザグアニン耐性獲得性を指標とするforward-mutation原法のpreincubation段階の液量を1/100に縮小化した手法(ultramicro forward-mutation法)で行った。個人曝露空気浮遊粉じんは、25mm ϕ の石英繊維フィルター上に、1.5~2.0l/minの吸引流量で24時間採取した。有機成分の抽出にはジクロロメタンを溶媒とする超音波抽出法を用いた。

(結果) 東京都及び神奈川県在住の喫煙者及び非喫煙者を対象として、昭和62年冬期及び昭和63年夏期に各4試料を採取し、その変異原性を測定した結果、①被験8試料はすべて良好なdose-response関係を与えた。②冬期試料は、夏期試料よりも一般に高い変異原比活性(mutation frequency/l,air)を与えた。③喫煙者の試料は、非喫煙者のそれよりも高い変異原比活性を与え、受動喫煙者の試料は前者の中間の変異原比活性を与えた。④S9mix無添加系の与える変異原比活性は、S9mix添加系のそれより一般に高いことが認められた。

P-24 テトラニトロメタンの変異原性について

早津彦哉、○明石牧子(岡山大・薬)

テトラニトロメタン(TNM)は、タンパク質のチオール基やフェノール水酸基を化学修飾することや、ロケット燃料の酸化剤であることなどが知られている。今回、TNM(Aldrich, 純度98%)をAmes testしたところ、TA100, -S9で変異原性が認められたので報告する。

DMSOに溶かしたTNMを25 μg assayすると、941コロニー(3回実験の結果の平均)が生じた。しかし、50 μg ではkillingをおこした。次に、試薬TNMを4倍量の水で3回洗うことによって不純物を除去してからassayすると、TNM4 μg で478コロニー(8回実験の結果の平均)が生じ、10 μg ではkillingがおきた。希釈したTNMを放置後使用すると変異原活性が下がる傾向があることに気がついたので、200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ DMSO液を3時間室温放置してから調べると活性は失われ、26コロニー/4 μg (4回実験の結果の平均)となった。

TNMの変異原性発現の機構を解明することは興味深い。TNMの分解機構も合わせて研究を進めている。

P-25 ニトロソプロリンの変異原性について

古川秀之、河井一明、服部由美、○高瀬千晶(名城大 薬)

[目的] ヒトの発癌に重要な役割を演じていると考えられているニトロソ化合物は、生活環境中に存在し、またヒト体内においても容易に生成するとされている。尿路感染症患者では膀胱内でバクテリアによりニトロソ化合物が生成するという報告があり¹⁾、大島ら²⁾は、尿中のニトロソプロリンを指標として癌の疫学研究を行っている。ニトロソプロリンには発癌性、変異原性がないとされているが、洋風食事でプロリン摂取量の多いことや、大気環境中のNO₂吸入者の尿にヒドロキシプロリン排泄が増加することなどを考え、種々な条件下における変異原性について検討したいと考えた。

[実験] ニトロソプロリンはLijinskyら³⁾の方法により合成した。変異原試験はAmesらのプレインキュベーション法によりSalmonella typhimurium TA98, TA100を用い、蛍光灯照射下並びに暗室で行った。またLijinskyの文献記載のニトロソプロリン精製法中にCHCl₃よりcolorlessのものとBenzeneより再結晶したpale yellowのものがある。演者らはcolorlessとpale brownについて行った。

[結果] プロリンと亜硝酸を、塩酸酸性下水冷下で反応させたところ白色の結晶を得、これには変異原性が認められなかった。また、反応を室温で行ったところ薄褐色の結晶が得られ、TA98, +S9の系で1750Rev./500 μg の変異原性が認められた。

References: 1)山本一彦、小西陽一、医学のあゆみ、148、632(1989). 2)大島寛史、トキシコロジーフォーラム、8、321(1985). 3) W.Lijinsky, L.Keefer and J.Loo, Tetrahedron, 26, 5137(1970).

P-26 N-ニトロソモルホリンの近紫外光-リン酸-処理で生成する直接変異原について

○木村幸子、有元佐賀恵、早津彦哉(岡山大・薬)

アルキルニトロソアミンは、リン酸緩衝液中で近紫外光を照射すると、直接変異原物質を生成する。今回我々は、N-ニトロソモルホリン(以下NMOR)について、生成する直接変異原物質の分離、精製を行った。40mM NMORをリン酸緩衝液(pH 7.4)中、近紫外光(313~400nm)を室温で3時間照射した。近紫外光照射前は変異原性を示さなかったが、照射後は、反応液150 μl 当り約7000His⁺(*S. typhimurium* TA1535, -S9)の変異原性を示した。反応条件を検討したところ、NMOR濃度は40mMが、またリン酸濃度は20mMが最も活性が高かった。この反応液を凍結乾燥後、メタノールで抽出し蒸発乾固した。残さを水に溶かし高速液体クロマトグラフィーにかけた。逆相系カラムを用いたHPLCにより分析したところ、ほとんど保持されずに溶出した。従って、親水性の高い物質であることがわかった。ついで、変異原性のあるピークを分取し、これをさらにイオン交換系カラムを用いたHPLCで分離すると、活性のある部分が単一のピークとして得られた。このピークを分取しUV吸収を調べると、NMORと同様233nm付近に吸収が見られ、活性物質にニトロソ基が残存している可能性のあることがわかった。また、これらHPLCでの挙動は、N-ニトロソピペリジンの光活性化で得られた α -水酸化体リン酸エステルと似ているので、恐らく同様のリン酸エステルと推定される。

P-27

Be, Ga, Sb, As化合物の変異原性

○円藤吟史¹, 黒田孝一², 岡本章良², 倉栄植³, 堀口 俊一¹ (¹阪市大医, ²阪市環境科研, ³Seoul Health Junior College)

先端技術産業の発展に伴い、各種金属の新素材としての利用が高まり、次々と新製品が開発される一方で、それらの毒性に関する研究は立ち後れている。我々はベリリウム、ガリウム、アンチモン、ヒ素の無機化合物13種について変異原性を調べた。

被検試料：試料は全て滅菌蒸留水で一定の濃度に調製した。酸化ガリウム、五酸化アンチモン、三塩化ヒ素、三酸化ヒ素については不溶ないし難溶であるため飽和溶液としてその上澄みを用いた。

結果：1) エームステスト これらの金属化合物のサルモネラ菌に対する毒性はかなり低く、5 mg/plate以下で増殖阻止を示したのは三塩化ヒ素のみであった。試験の結果有意に変異コロニーが増加した化合物はなく、全て陰性であった。2) レクアッセイ 増殖障害を示さなかった五酸化アンチモン、酸化ガリウム、酸化ベリリウム以外の化合物10種は全てDNA 損傷性を有していると判定された。両試験で結果が大きく異なった原因としてはエームステストとレクアッセイでは変異原性検出域が異なるためであると考えられる。

3) SCE チャイニーズハムスター株化細胞V79 を用いた。塩化ベリリウム、酸化ベリリウムは対照に比べて有意の増加がみられた。しかしいずれも対照の2 倍に達しない、弱いSCE 誘起性であった。

P-28

The Genotoxic Effect of Sodium Fluoride

○李 傑¹, 鈴木勇司², 林 和夫², 清水英佑²
(¹山東医大・環境医学, ²慈恵医大・公衛)

Fluoride is an ubiquitous element naturally or artificially distributed in our environment. The data about the genotoxicity of fluoride at present is rather mixed. So it is essential to carry out a series of tests to clarify this controversial issue.

3 short term test, i.e., Ames Salmonella microsome assays, fluctuation test and in vitro CHL micronucleus assay with blinded calculation were performed in detecting the mutagenicity and clastogenicity of fluoride. Sodium fluoride (1-5000ug/plate or tube) didn't induce any mutagenic or toxic effects in Ames assay and fluctuation test with and without S9 mix in TA98, TA100 and E. Coli WP2 uvrA, but did induce significantly increasing of micronuclei rate in CHL cells. Although high concentrations of fluoride is confirmed as a potential clastogenic factor in our test, the exact effect of fluoride in vivo is still unknown because of the homeostasis of human body. Further research is needed.

P-29

磁場の変異原性に与える影響 (第3報)
-In vitro 小核試験による場合-

○清水英佑¹, 李 傑², 鈴木勇司¹, 関 良子¹
(¹慈恵医大・公衛, ²山東医科大学)

ヒトの白血病と磁場曝露は関連があると言われるが、アルミニウムプラントでは磁場曝露だけでなくフッ素にも曝露することが知られている。本学会で、我々はフッ化ナトリウム(NaF)に小核誘発能すなわち染色体異常誘発性を報告した。そこで、フッ化物共存下での磁場曝露の影響について検討した。

【方法】磁場装置は、日本電子社製FTNMR GSX 500(11.75T), GSX270(6.34T), ESR JESRE2X (1, 0.5, 0.15T)(T:テスラ=10⁴ガウス)および鉄道総合技術研究所の装置(2T)を用いた。実験は、Ames test (TA98, TA100)およびCHL細胞を用いて、我々の開発したin vitro 小核試験にて、いずれも NaF存在下で磁場に曝露した場合について検討した。

【結果及び考察】① Ames test : NaF 存在下(1~5000 μg/plate)で磁場曝露した場合、S9 mixの有無にかかわらず両菌株とも陰性であった。② In vitro小核試験 : CHL細胞に磁場のみを曝露しても小核の誘発は認められない。NaF(0.42, 2.0, 42 μg/ml)存在下でCHL細胞に磁場曝露すると、磁場強度と小核誘発頻度間に量-反応関係が認められた。磁場の変異原性増強作用はin vitro小核試験で認められたが、サルモネラ菌では認められなかった。磁場の影響は細菌よりも哺乳動物細胞の染色体異常を指標とした方が感受性がよいのか、さらに検討を進める必要がある。

本研究に磁場装置の使用を許可下さった鉄道総合技術研究所の中川正祥博士に感謝いたします。本研究の一部は上原記念生命科学財団の援助による。

P-30

磁場の変異原性に与える影響 (第4報)
-サルモネラ菌による場合-

○関 良子¹, 鈴木勇司¹, 李 傑², 林 和夫², 清水英佑¹ (¹慈恵医大・公衛, ²山東医大)

磁場の生体影響に対する関心が高まっている。我々は一昨年来、高磁場の影響についてAmes testに用いるサルモネラ菌を用いて検討してきた。菌を11.75T(テスラ=10⁴ガウス)に単独曝露しても復帰突然変異に影響を与えなかったが、AF-2共存下で0.15~11.75Tまで、磁場の強さを変えて曝露すると量-反応関係を示す変異原性の抑制を示した。

一方、5-nitroacenaphthenを同様の強さの磁場に曝露すると、逆に変異原性は量-反応関係を示して増強した。いずれも、-S9mix下であった。今回は、+S9mixを必要とする4物質の磁場曝露下での変異原性に与える影響を検討したので報告する。

【方法】前回同様 菌はTA98を用い、S9はSDラットPCB誘導を用いた。被験物質はBenzo(a)pyrene(BaP), 2-Acethylaminofluorene(2AAF), 9,10-Dimethylbenzanthracene(DMBA)および3-Methylchoranthrene(3MC)の4物質である。磁場曝露は日本電子製 ESR JES-RE2X (0.15~2.0T)および鉄道総合技術研究所の装置(2.0T)を用いた。

【結果と考察】4物質とも単独では+S9mixで強い変異原性を示す物質である。DMBAが10および20 μg/plateの時、1T~2Tにかけて少し抑制される傾向が認められたが、BaP, 3MC, 2AAFでは、磁場曝露による著名な抑制や増強が認められなかった。さらに強い磁場曝露による影響を検討する必要がある。

本研究に磁場装置の使用を許可下さった鉄道総合技術研究所の中川正祥博士に感謝いたします。本研究の一部は上原記念生命科学財団の援助による。

P-31 光力学作用によるumu遺伝子発現の誘発

○岩本 功¹・中島 克子²・米田 和子²・大西 武雄²(奈良衛研¹・奈良医大²)

従来我々の研究グループではUV-A・近紫外線(UVA)やアトフェン(UVA)によってumu遺伝子の発現が誘発されることを報告してきた。これらの化学物質とUVAとの組合せは一般に光力学作用と呼ばれ、細胞に致死をもたらすことがわかっている。今回我々は他の化学物質(NADPH・NADH・カプソジン・ヒチノール・6-メチルトプリン・2-チオラシル・ウラシル)によってumu遺伝子の発現が誘発されるかを検討した。これらはいずれもすでに光力学作用があることが確認されている。

カモネ菌(TA1535とTA1538)にumu遺伝子のプロモーター部分をもったプラスミドpSK1002を導入させた。約100mMまでの化学物質とUVBで処理した後、2時間培養した。umu遺伝子の発現はlacZ遺伝子産物であるβ-ガラクトシダーゼの活性の割合で求めた。遺伝子発現の誘発が認められた場合にはUVBの光の強さによる発現誘発も確認した。

umu遺伝子発現の誘発が認められたのは6-メチルトプリンと2-チオラシルのみであり、残りの化学物質(NADPH・NADH・カプソジン・ヒチノール・ウラシル)によってumu遺伝子発現が誘発されることはみとめられなかった。UV-AやアトフェンはすでにDNA損傷をもたらすことがわかっているので、umu遺伝子発現の誘発は容易に理解できる。しかしカプソジンのようにDNAに損傷をもたらされることがわかっているにもかかわらず遺伝子発現の誘発が認められなかったしくみや6-メチルトプリンと2-チオラシルによる遺伝子発現の誘発のしくみについて考察する。

P-32 核酸修飾塩基 2-amino-N⁶-hydroxyadenine とその deoxyriboside, deoxyriboside 5'-phosphate の変異原性について

○土山 宏高¹・山根 和子¹・小原 淑子¹・綿矢 有佑¹・早津 彦哉¹・根岸 和雄²・松田 彰³・上田 亨³(¹岡山大学・薬,²岡山大学・遺伝子,³北大・薬)

環境中に存在する化学物質、薬品などによって核酸塩基が何らかの修飾を受け、それがDNA合成の基質となって変異を起こすという可能性がある。我々は以前から核酸修飾塩基N⁴-aminocytidineの変異原性について研究し、その強い活性について報告してきた。

2-Amino-N⁶-hydroxyadenine (AHA) は、アカパンカビを用いる(ad-3)変異原性テストにおいてATからGCへのtransitionを強くひき起こすことが知られている。今回我々は、AHA deoxyriboside 5'-triphosphateを合成してDNA複製での挙動を調べることが目標として、まずAHA deoxyriboside およびその5'-phosphateを合成したところ、これらヌクレオシド、ヌクレオチドにも変異原性があることを見出した。*S. typhimurium* TA100(-S9)での活性は、AHA, 40000 His⁺ revertants/μg AHA deoxyriboside, 5200 His⁺ revertants/μg AHA deoxyriboside 5'-monophosphate, 2600 His⁺ revertants/μgであった。またFM3A細胞(ouabain耐性を指標とした)を用いて調べたmutation frequencyは、AHA, 7.5×10⁻⁵/5.3×10⁻⁷ M AHA deoxyriboside, 3.9×10⁻⁴/2.4×10⁻⁶ Mであった。(Control 6.0×10⁻⁸) Amesテストの活性で見ると、AHAとAHA deoxyribosideは、N⁴-aminocytidineを含めて我々が調べたヌクレオシドアナログ中最も変異原性が強いことがわかった。

P-33

塩基アナログ、2-Amino-N⁶-hydroxyadenine 及びN⁴-Aminocytidineのジフテリア毒素抵抗性を指標としたCHL細胞に対する変異原性

○青沼 志珠・広瀬 美砂子・中易 教江・若林 敏二・杉村 隆・長尾 美奈子(国立がんセンター研究所・発がん研究部)

多くの核酸アナログ及び塩基アナログが変異原性を持つことが知られている。それらはDNA複製時に誤って取り込まれることにより変異原性を引き起こすと考えられている。プリンアナログである2-Amino-N⁶-hydroxyadenine (2AHA)及びピリミジンアナログであるN⁴-Aminocytidine (N⁴AC)は、従来の核酸アナログに比べ強力な変異原性を示す事がバクテリアの系で報告された。そこで、今回2AHA及びN⁴ACの哺乳動物細胞に対する変異原性を検討した。細胞は培養チャイニーズハムスター肺(CHL)細胞を用いて、ジフテリア毒素抵抗(DT^r)細胞の出現を指標とした。

CHL細胞を2AHA及びN⁴ACで3時間処理し、7日間培養した後(expression time)ジフテリア毒素存在下で培養し、DT^r細胞の出現頻度を調べた。2AHAでは2.5 μg~10 μg/mlの間で濃度に依存してDT^r細胞の出現が認められた。出現頻度は10 μg/mlで63DT^r/2.5×10⁵生細胞であった。その変異誘導率はアミノαカルボリン及びメチルニトロソウレアに匹敵する。また10 μg/mlの濃度で60%の細胞毒性を示した。これに対しN⁴ACは3時間処理ではDT^r細胞を出現させず、24時間処理において30 μg/mlで出現頻度は80DT^r/2.5×10⁵生細胞であった。その変異誘導率はジメチルニトロソアミン及びAF-2に匹敵する。またN⁴ACは24時間処理でも細胞毒性が認められず、2AHAと異なる現象を示した。

P-34 Phenylenediamine類の酸化により生成する変異原物質について

○渡辺 徹志・西垣 哲也・平山 晃久・福井 昭三(京都薬大)

演者はこれまで2,4-diaminotolueneのH₂O₂処理により主変異原物質として2,7-diNH₂-3,8-diMe-phenazine(Pz)が、また副生成物として1,8-diNH₂-2,7-diMe-Pzを含む数種の化合物が生成することを報告した。さらにPz類の構造と変異原性との関係について検討し、Pz骨格の長軸方向である2,3,7,8-位にNO₂基やNH₂基を有するPz類が変異原性を有することを明らかにした。今回、染毛剤原料9種を含む12種のphenylenediamine(PD)類についてH₂O₂処理による変異原活性の変化及び生成した変異原物質の構造について検討した。PD類はアンモニアルカリ性下30°CでH₂O₂処理を行った。反応2日後、ろ過及びAcOEt抽出によりH₂O₂処理物として沈殿物及びAcOEt抽出物を得た。PD類及びH₂O₂処理物はS9mix存在下及び非存在下で*S. typhimurium* TA98に対する変異原性を試験した。o-PD、p-Cl-o-PD、m-PD、p-Ome-m-PDでH₂O₂処理により変異原活性の著しい上昇が認められた(+ S9mix)。p-Cl-o-PD及びp-Ome-m-PDのH₂O₂処理物について、変異原性を指標とした分画及び再結晶により2,3-diNH₂-7-Cl-Pz、2,7-diNH₂-3,8-diOme-Pz及び2,7-diNH₂-3-Ome-Pzを単離した。o-PD及びm-PDのH₂O₂処理物について標準物質を用いたGC-MS法によりそれぞれ2,3-diNH₂-Pz及び2,7-diNH₂-Pzを検出した。構造を確認したPz類はいずれもTA98に対し、S9mix存在下で変異原性を示し、特に2,7-diNH₂-Pz類の変異原活性は高かった。

P-35 2つの試験系によるアルキル化剤 検出能の比較

○大塚雅則, 稲井恒彦, 岡田真理, 小椋正造
(財団法人化学品検査協会 日田研究所)

我々は、すでに大腸菌CSH26/pMCP1000(alkA'-lacZ)及びCSH26/pSK1002(umuC'-lacZ)の融合遺伝子発現系を用いて、8種類のアルキル化剤(S_N1: MNNG, ENNG, MNU, ENU, S_N2: MMS, EMS, DMS, DES)に対する検出能の違いを、potency及びsensitivityを指標にして調べ、alkA'-lacZは、S_N1、S_N2いずれのタイプのアルキル化剤であっても、エチル化剤よりもメチル化剤に対してより強いpotency及びsensitivityを示し、umuC'-lacZは、S_N1タイプではエチル化剤に、S_N2タイプではメチル化剤に対してより強いpotency及びsensitivityを示す事を報告した。

今回サルモネラ菌TA100を用いて、前回と同じアルキル化剤について復帰突然変異の誘発を比活性を指標にして調べたところ、S_N1、S_N2ともエチル化剤よりもメチル化剤で、より強い比活性を示す事が観察された。アルキル化剤のSOS反応に依存した突然変異の誘発と依存しない突然変異の誘発に対する大腸菌とサルモネラ菌 host cellのDNA損傷修復能の相違が、これらの試験系の検出能にどのように関係しているか、現在 host cell の mutation frequencyを求め検討中である。

P-36 オーキシシンおよびサイトカイニン の変異原性について

○浅野哲秀(日東電工、生物化学研究所)

植物の分化、増殖に必要なホルモンとして、オーキシシン、サイトカイニン、ジベレリン、アブシジン酸等が知られている。オーキシシンはインドールおよびナフトレン骨格を持つものが多く、サイトカイニンには核酸の誘導体が多い。今回、オーキシシンとしてインドール酢酸、インドールプロピオン酸、インドール酪酸、2,4-ジクロロフェノキシ酢酸、ナフトール酢酸およびその骨格となるインドールを、またサイトカイニンとしてカイネチン、6-ベンジルアデニンおよびt-ゼアチンについてin vitro染色体異常試験ならびにAmes試験を実施した。

これらオーキシシン、サイトカイニンはAmes試験でS₉存在下、非存在下でも陰性であった。

一方、CHL細胞を用いた染色体異常試験ではインドールに染色体異常の誘発(直接法、代謝活性化法)が見られ、またインドール誘導体の一部に低い染色体異常の誘発(直接法)が観察された。しかしながら、植物で変異原性が報告されている2,4-ジクロロフェノキシ酢酸には染色体異常の誘発は観察されなかった。

核酸の誘導体であるサイトカイニン3種については染色体異常の誘発は、直接法、代謝活性化法ともに観察されなかった。

P-37 Polyploid 誘発剤の変異原性試験

○古川明美, 大内田昭信(大鵬薬品 安全性研)

我々はin vitroで特異的にpolyploidを誘発する5種の化合物(diethylstilbestrol (DES), narcotine, thiabendazole, ethyl vanillin, p-nitrotoluene)について小核試験を実施し、昨年の本学会でin vitroでのpolyploidとin vivoでの小核の出現に相関がないことを報告した。

今回、5化合物のin vivoの染色体異常試験を実施し、polyploidの出現の有無を調べた。また、紡錘体形成阻害剤であるビカリス芬等はpolyploidの出現と小核の出現を誘発することから、5化合物についてフェルカン重合阻害能の有無を確認した。In vivo染色体異常試験では、オリーブオイルで懸濁された5化合物(3-5用量)を8週齢のBDF₁雄マウスの腹腔内に投与した。6, 24, 48hr後に染色体標本作製し、盲検法にて観察した。フェルカン重合阻害試験では、DMSOに溶解した5化合物を精製された牛脳フェルカンおよびGTPと混合し、重合阻害の程度を濁度で観察した。

今回、調べた5化合物におけるin vivoでのpolyploidの出現頻度はいずれの用量および処理時間においても0-3.5%であり、in vitroとの相関はなかった。また、DES以外の4化合物にはフェルカン重合阻害作用はみられなかった。

現在、In vitroの小核試験を実施しており、in vitroとin vivoの差についても合わせて報告したい。

P-38 カコジル酸のコルヒチン様活性

○黒田孝一¹, 円藤吟史², 岡本章良¹, 倉栄植³, 堀口 俊一² (¹阪市環境科研, ²阪市大医, ³Seoul Health Junior College)

ヒ素はヒトに発がん性を示すと考えられているがその機構については不明である。我々は発がん性に関する知見を得るため有機ヒ素化合物12種の変異原性について調べ、本学会で報告した(1987)。その結果サルモネラ菌に対しては変異原性を示す化合物はなかったが、レクアッセイ、SCE では陽性を示す物質が多くみられた。その研究の中でカコジル酸にコルヒチン様活性が見いだされたので報告する。
材料と方法: カコジル酸は半井および石津製薬から購入した。細胞はV79を用い、姉妹染色分体はFPG法によって分染した。

結果: 対数増殖期のV79細胞にカコジル酸を加え、26時間暗培養(BUDR添加)、コルヒセミドを加え、更に2時間培養後に固定、分染を行った。その結果完全分染細胞(2回分裂細胞)に高率に4倍体の形成がみられ、形成率の量反応性は明確であった。また同細胞をカコジル酸で数時間処理することによってコルヒチン処理と同程度に中期分裂細胞が得られた。これらの結果はカコジル酸が紡錘糸の形成(ミクロチューブリンの重合)を阻害することを示唆している。またPHAによる幼弱化ヒトリンパ球に対する影響を調べたところ、カコジル酸は分裂遅延効果を示すと同時にリンパ球の幼弱化および赤血球凝集能を僅かであるが阻害した。我々はカコジル酸がPHAと結合することによってリンパ球幼弱化および赤血球凝集能を阻害すると推定している。

P-39 雑種細胞 A9(GM3552)-2 を用いた異数性誘発物質の検出

○山影康次¹, 押村光雄², 田中憲穂¹

(¹食薬安全セ・秦野研・細胞生物, ²神奈川ガンセ・研・細胞遺伝)

我々は、代表的な紡錘糸形成阻害剤であるコルセミドを用いた実験から、雑種細胞中のヒト染色体の数をマーカーとした本実験系が、化学物質の染色体異数性誘発物質の検出系として有効である事を昨年の本大会で発表した。

今回我々は、コルセミドに加えてtubulin 蛋白に作用するものとしてピンクリスチン、ポドヒョロトキシン、centriol/centrosome に影響をあたえるものとしてジエチルスチルベストロール (DES)、構造異常を起こすものとしてマイトマイシンC (MMC) を用い、これらの薬物で誘発される異数性細胞および倍数性細胞の出現頻度を調べた。

A9(GM3552)-2細胞を播種し、24時間後に先の薬物を加え24時間処理した。処理終了後、培地を交換し更に24時間培養し、染色体標本を作製した。標本をキナクリン・ヘキスト二重染色し、ヒト染色体の数をカウントした。

その結果、コルセミド、ピンクリスチンでは異数性細胞および倍数性細胞の両出現頻度とも濃度に依存して高くなった。ポドヒョロトキシン、DESでは濃度に依存して倍数性細胞の出現頻度が高くなったが、異数性細胞の頻度に関しては明瞭な濃度依存性は見られなかった。これらに対してMMCでは、両出現頻度ともに濃度依存性は見られなかった。

以上の事から、薬物によっては異数性細胞の誘発と倍数性細胞の誘発に何らかの差異が有る事が示唆された。

P-40 ショウジョウバエの変異原検出系 -腸内細菌について-

古川秀之¹、河井一明¹、○田邊麻美¹、
広野巖² (¹名城大・薬、²藤田学園保健衛生大・医)

[目的] 変異原の代謝活性化には肝ミクロソーム分画によるものと腸内細菌によるものがある。プレインキュベーション法を行うAmes法は前者の検出系に相当し、後者については検出系がまだ十分に確立していない。cycasinはAmes test -, ショウジョウバエ wing spot test + であり、ショウジョウバエの腸内細菌のうちβ-グリコシダーゼ活性を有する8株を分離したので、これの同定を試みた。

[実験] *Drosophila melanogaster* flr³/TM3, Ser 雄とmwh jv:spa⁹¹ 雌を交配させて得た3齢幼虫 (Medium; Glucose 30g, Agar 2.3g, エビオス 12g, コーンミール (株) サニーマイズ社製) 23g, H₂O 300ml, プロピオン酸 1.2ml, 25°C飼育) より分離したβ-グリコシダーゼ活性を有する消化管内細菌についてBergey's Manual of Systematic Bacteriology (1986)に従って同定を試みた。

[結果] β-グリコシダーゼ活性は、BL寒天培地より分離した2株の方が、EG寒天培地より分離した株より高かった。BL寒天培地より分離した2株は、いずれもLactobacillusである。EG寒天培地より分離した1株は、通性嫌気性の球菌または球桿菌であってActinobacillusに酷似しているがActinobacillusが非運動性であるのに対し本菌は運動性であるという点が異なっている。腸内菌叢は食事に依存し、今後の問題と考えている。ショウジョウバエの変異原検出系は代謝活性化について哺乳類の肝ミクロソームに相当する機能および腸内細菌の機能の2つを合わせ持つと考えることができるかもしれない。

P-41 醤油中の変異原性増強因子の研究

○東元稔^{1,2}、 俣野景典²、 木内武美¹、
大西克成¹ (¹徳島大医、²徳島文理大薬)

活性炭処理によって tyramine 等の変異原前駆体を除いた醤油 (CSS) 中には、亜硝酸処理 tyramine の変異原性を約10倍増強する物質が含まれていることを明らかにしてきた。

変異原性試験は、サルモネラ菌 TA100株を用いて、S9 (-) で、37°C、20分間の preincubation 法で行った。preincubation をしない場合には CSS の添加は無効であった。

各種の変異原物質に与える CSS の影響を調べたところ、bamethan 系 (etilefrine、phenylephrine、synephrine) 及び tyramine 系 (p-cumaric acid、p-hydroxyphenylpyruvic acid、p-hydroxyphenethyl alcohol) 化合物を亜硝酸処理したものの変異原性は、1 μl/plate の CSS の添加によって5~13倍増強されたが、4-nitroquinoline 1-oxide、benzo[a]pyrene、2-aminoanthracene などの変異原に対しては、CSS の添加は効果がなかった。

CSS を照射したり、100°C、10分間加熱しても変異原増強効果があったので、糖類が予想された。従って、CSS を糖分析用 HPLC で分画し、亜硝酸処理 tyramine に対する変異原性増強作用を調べると、数個のピークと一致して活性がみられた。各ピークに溶出される可能性がある19種の単糖、二糖類の変異原性増強活性を測定したところ、glucose、mannose、melibiose、glycerol などが高かった。

P-42 煙草タール中の突然変異誘発増強およびDNA修復阻害物質の検討

○下位香代子¹、森直子¹、佐々木有²、白須泰彦²、
富田勲¹ (¹静岡県立大・薬、²残留農薬研)

今までに、植物成分やUV吸収剤に突然変異増強物質が存在し、それらが哺乳動物培養細胞においても微生物の場合と同じような効果を示すことを本学会で報告してきた。このような作用物質が環境中にも存在すると考え煙草タールについて検討し分離を試みた。検索にあたり、*E. coli* B/r WP2を用いてUV誘発突然変異を指標とした。

市販のマイルドセブンをを用い、全自動喫煙装置により主流煙タールを液体窒素下捕集した。検索の第一段階として塩化メチレンに溶解させた後、酸-塩基分別抽出を行ったところ、塩基性画分に活性が認められた。しかしこの塩基性画分は、DNA除去修復欠損株 (WP2s) では増強作用を示さず、また、MNN G誘発突然変異に対しても効果が認められなかった。従って、塩基性画分が、以前に報告したメチルシナベートなどと同様に、DNA除去修復を阻害して突然変異を増強させることが示唆された。

塩基性画分をさらにSEP-PAK (Alumina B およびSilica) 処理、シリカゲルクロマトグラフィおよびHPLC (Inertsil ODS-2) により分画したところ50~70% MeOH水溶液で溶出される画分に活性が認められ、この活性画分の分析結果についても報告する。

P-43 Trp-P-2(NHOH)の変異原性に対するクロロフィル及びクロロフィリン関連物質の抑制効果

○中野浩美, 根岸友恵, 早津彦哉(岡山大学・薬)

クロレラ・クロロフィル及び市販のクロロフィリンが, Trp-P-2などの変異原性を抑制することを既に報告した。今回我々は, クロロフィルの抽出原料並びに精製度の違いが抑制効果に影響するかどうか, 変異原物質としてTrp-P-2の活性化体Trp-P-2(NHOH)を用い, Ames試験(TA 98, -S9)で調べた。同時に種々のクロロフィリン誘導体の抑制効果も検討した。誘導体としては市販の銅クロロフィリン-Na(純度35%), 銅クロリン e_6 -Na(純度95%, 銅クロロフィリン-Na), 中心金属が鉄にかわった鉄クロリン e_6 -Na, 銅クロリン e_6 -Naから脱炭酸したジカルボン酸ナトリウム誘導体銅クロリン e_4 -Na, 中心金属のないクロリン e_6 -Naを用いた。その結果, クロロフィル50 nmol相当/plateの場合の抑制効果はクロレラペースト98%, 精製物82%; クロレラブルガリスE25ペースト98%, 精製物67%; ホーレン草ペースト85%, 精製物57%となり, クロロフィル抽出物については精製物よりもペーストの方が変異原性抑制効果が高かった。クロロフィリン誘導体についてはクロロフィリン5 nmol相当/plateの場合の抑制効果は, 中心に金属の入っているもの約90%, 中心金属のないもの24%となり, 中心金属の入っているものの方が変異原性抑制効果の高いことがわかった。

P-44 染色体異常誘発に対する茶カテキン類のin vitro, in vivoでの抑制作用

○今西久子, 佐々木有, 松元郷六, 加藤朋子, 太田敏博, 白須泰彦(残留農業研究所)

緑茶タンニン由来の粗カテキン(ポリフェノン, EGCgが主成分)および紅茶の色素成分である粗テアフラビンの染色体異常誘発抑制作用をin vitroおよびin vivoで検討したのでその結果について報告する。

MMCまたはベンツピレン(BaP, with S9 mix)で処理したチャイニーズハムスター由来の培養細胞を, S9 mix存在下・非存在下でカテキンまたはテアフラビンで処理した。その結果, 細胞をS9 mix存在下でカテキンまたはテアフラビンで処理した時に染色体異常の誘発に対する抑制効果が認められた。

ddY系雄マウスにカテキンまたはテアフラビンを経口投与し, さらにMMCまたはプロカルバジン(PCZ)を腹腔内投与した。MMCおよびPCZ投与の24時間後に骨髓細胞塗沫標本を作製した。カテキンまたはテアフラビンをMMC・PCZ投与の6時間前に投与したところ, 小核の頻度が顕著に減少した。以上の結果より, 直接変異原であるMMCと間接変異原であるBaP, PCZによる染色体異常の誘発に対するカテキンおよびテアフラビンの抑制効果が示唆され, これらの代謝産物の中に染色体異常抑制作用を有するものがあると考えられた。

本研究にあたり, 粗カテキンおよび粗テアフラビンを提供して頂いた三井農林食品総合研究所・原征彦博士に感謝致します。

P-45 SOS Chromotest を用いた抗変異原物質の検出

○近澤和彦¹, 山守英朋¹, 佐藤孝彦¹, 小瀬洋喜², 鬼頭英明¹, 永瀬久光¹(¹岐薬大 公衆衛生学教室, ²岐阜女子短大)

(目的) 現在までに数多くの抗変異原物質が検出されているが, その多くはAmesテストによるものが多い。SOS Chromotestによる抗変異原試験法の確立を目的とし, Amesテストにより抗変異原性が報告されている物質について実験を行った。又, 変異原物質と抗変異原物質の同時添加, 及び変異原物質が作用した後の抗変異原物質添加の二通りの抗変異原試験を行い, メカニズムの検討も行った。

(方法) E.coli PQ37株を用い, Quillardetらによって示されたSOS ChromotestのStandard Procedureを基に演者らが抗変異原試験用に変更した方法を使用した。変異原性を増加させる手段又は変異原物質として, UV, 4NQO, B[a]P, MNNGを使用し, 抗変異原性物質としては, V.C, グルタチオン, 亜ヒ酸ナトリウム, 亜セレン酸ナトリウム, 5-FU, 5-CU, 塩化コバルト, バニリンを使用した。

(結果) V.CはUV照射時, 4NQOとの同時添加, グルタチオンは4NQOとの同時添加, MNNGとの同時添加で各々の変異原性を抑制した。5-FUはUV照射時, 照射後, 4NQOとの同時添加, 後添加, MNNGとの同時添加で各々抑制したが, 5-CUはUV照射時においてのみその変異を抑制した。バニリンはUV照射時, 照射後, 4NQOとの同時添加, MNNGとの同時添加で各々の変異原性を増強するという結果が得られた。

P-46 活性酸素消去剤, CV-3611の抗膀胱癌がんプロモーター作用

○鈴木美加¹, 曾根秀子¹, 串田弘美¹, 若林敬二¹, 長尾美奈子¹, 垣添忠生¹, 杉山清², 杉村隆¹(国立がんセンター研究所¹, 静岡県立大学²)

発がんのプロモーションプロセスで活性酸素が生成することが示唆されている。そこで活性酸素消去剤として開発された2-O-Octadecylascorbic acid (CV-3611)が膀胱癌がんの抗プロモーター作用を有するか否かについて検討した。まず, コンカナバリンA存在下における膀胱上皮細胞の凝集を指標とした短期検索法を用いて, CV-3611の影響を調べた。

6週令の雄のF344ラットに, 0.01%のN-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (BHN)を飲料水に混ぜて1週間摂取させた引き続き, sodium saccharin (5%), DL-tryptophan (2%) 及びBHN (0.01%)を飼料又は飲料水に混ぜて3週間投与した。これらプロモーション期間に, 0.02, 0.006 及び0.002%のCV-3611を飼料に混ぜて同時に投与した。その結果, 0.02% CV-3611投与により各グループの膀胱上皮細胞の凝集数は60-89%減少した。膀胱上皮細胞の凝集は0.006, 0.002% CV-3611投与によっても有意に抑制された。CV-3611の抗膀胱癌がんプロモーター作用が示唆された。

P-47

環境中の変異原の吸着除去剤の検索

布柴達男、村田昭子、○西岡 一（同志社大、生化研）

食物繊維が食品中の変異原を吸着し、体外へ排出することが報告され、食物繊維の摂取が、がん予防に有効である可能性が示されている。一方、一般環境中からの変異原/発がん物質の除去も、健康な生活環境の保持のために極めて重要である。そこで本研究では、生活周辺に通常的に存在し、しかも一般に無用とされ廃棄されている物質を中心に、変異原を吸着し、かつ、その変異原性を消失させる吸着除去剤を検索し、開発することを試みた。吸着除去剤試料には、コーヒー豆抽出残渣、米ぬか、栗の皮、卵の殻、そば殻、ギンナンの殻、ピーナッツの殻、脱脂綿、こんにやく（ホモジナイズ）、火山灰（鹿児島県桜島付近で採取）などを使用した。また、対照としてヤシガラ活性炭（市販、32~64mesh）を用いた。

変異原の溶液と適量の吸着除去剤試料を30分間37°Cで振盪処理したのち、上清をサルモネラ菌TA98を用いた復帰変異試験にかけた。その結果、1mlの1-nitropyrene(5 μ g/ml; 1-NP)との処理により、100mgの活性炭、米ぬか、そば殻は、変異原性をほぼ完全に、コーヒー抽出残渣と栗の皮では約30~50%に減少させた。しかし、脱脂綿、こんにやく、火山灰 5種などは殆ど減少させなかった。また活性炭はGlu-P-1(0.5 μ g/ml)、aflatoxin B₁(15 μ g/ml)に対しても有効であったが、AF-2の変異原性に対しては殆ど効果がみられなかった。一方、コーヒー抽出残渣は、Glu-P-1の変異原性を約50%減少させたが、aflatoxin B₁、AF-2に対しては効果がみられなかった。これらの結果から、米ぬか、そば殻、コーヒー抽出残渣、栗の皮などが活性炭に近い吸着効果を示し、変異原の吸着除去剤として有効である可能性が認められた。また、これらの吸着除去作用の機構についても検討した。

P-48

ハエDNA 修復試験を用いたTrp-P-2 のDNA 損傷性に対する食物繊維の阻害効果

○尾花裕孝¹，中村清一¹，梁治子²
(¹ 大阪府立公衛研，² 阪大医)

食物繊維はin vitro試験系においてヘテロサイクリックアミン類などの変異原物質を強く吸着することが知られている。食物繊維の吸着作用が強力であることからin vivo系においても吸着効果を示すのではないかと考え、ショウジョウバエDNA 修復試験法を用いてTrp-P-2 のDNA 損傷性に対する食物繊維の阻害効果を検討した。ショウジョウバエDNA 修復試験には組み換え能欠損二重変異株(meⁱ-9^d meⁱ-41^{D5}/C(1)DX,yf)を用いた。飼育瓶中でインスタント培地と食物繊維の混合物1.1gとTrp-P-2 溶液3mlをよく混ぜ合わせ、100-150匹の3 令幼虫を加えた後そのまま飼育し羽化した成虫の数を数えた。Trp-P-2(2.4mg/vial)を培地に加えると雄(meⁱ-9^d meⁱ-41)の成虫数は無添加コントロールの75匹から10匹に減少した。同条件で培地にオカラから分離した食物繊維(NDF:neutral detergent fiber)を10%の割合で添加すると、雄の成虫数は66匹に回復した。同様に培地にリグニンを10%添加すると雄の成虫数は17匹であった。オカラNDF およびリグニンはTrp-P-2 によるDNA 損傷性に対して阻害効果があることを示唆した。セルロース、ペクチン、ポリデキストロースについてもTrp-P-2 のDNA 損傷性に対する阻害効果を検討中である。

P-49

マウス糞便中の変異原活性の指標となる二三のパラメータにおよぼす食餌制限の影響

○菱沼宏哉¹，細野 朗²，長田和実²，稲場文男^{1,3}，木村修一²

(¹新技術開発事業団，²東北大・農・栄養化学，³東北大・電通研・量子電子工学)

近年、日本においても食事の欧米化に伴い、大腸癌の罹患率が増加している。ところで、食餌制限は、生体内過酸化物質に対する抵抗力の増強、生体防御機能の増強、自然発癌および化学発癌の抑制、加齢に伴う多くの疾患の抑制、個体レベルでの平均寿命の延長等、多くの効果が確認されている食餌条件であるが、この食餌制限が腸内菌叢を含めた腸管の機能に与える効果、特に大腸癌に対する予防効果については、必ずしも明らかではない。今回我々は、マウス糞便中の変異原活性の指標となるパラメータ(pH、 β -グルクロニダーゼ活性、活性酸素種など)におよぼす食餌制限の影響に関して検討を行った。糞便中の活性酸素種については、極微弱発光(糞懸濁液の自然極微弱発光、糞懸濁液のルミノール依存性極微弱発光、糞懸濁液にS-9 mixを添加した場合の自然極微弱発光、および糞懸濁液にS-9 mixを添加した場合のルミノール依存性極微弱発光)を用いて検討した。その結果、上記のいずれのパラメータにおいても食餌制限マウスと対照マウスとの間に差異は認められなかった。従って、上記のパラメータで見ると、自然発癌や化学発癌の抑制、平均寿命の延長等、多くの効果を持つ食餌制限は、大腸癌に対する予防効果を持たないことが示唆された。

P-50

umuテストにおけるニトロ還元酵素欠損株(G46NR/pSK1002)の開発

○安永勝昭，井上由起，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〕Salmonella菌体のニトロ還元酵素は、哺乳動物のそれと比較して基質特異性が極めて低いことが知られている。したがって、ニトロ還元酵素は肝S9画分に存在するものに依存した方が、変異原物質の検出の際により効果的・実質的な実験成績が得られる。今回、umuテストに使用される菌株からニトロ還元酵素欠損株(NR)を作製し、umuテストを改良することを試みた。

〔実験方法と結果〕まずSalmonella typhimurium G46株に、MNNG(50 μ g/ml, 37°C, 30分間)を処理し、nitrofurazone(20 μ g/ml)を含む培地における耐性菌を選択した。この操作で44株のnitrofurazone耐性株が分離され、各々についてG46固有の遺伝的特徴を確認した。さらに、nitrofurazone(40 μ g/ml)を含む培地で11株中3株の耐性菌を選択し、上記と同時にその遺伝的特徴を確認した結果、3株中にG46の遺伝的特徴が明確に保持されている1株(G46NR)を分離した。このG46NR株にIA1535/pSK1002から分離精製したpSK1002を入れ、G46NR/pSK1002を作製した。

このG46NR/pSK1002と前回報告したG46/pSK1002との間でnitrofurazone(0.5~5 μ g/ml, 37°C, 120分間)によるumu遺伝子の誘発能を測定した結果、G46NR/pSK1002ではumu遺伝子の誘発や殺菌効果が認められず、一方G46/pSK1002ではumu遺伝子の誘発(陰性対照の6倍)が明確に示された。以上の実験結果から、G46NR/pSK1002はニトロ還元酵素欠損株であることが示唆された。今後、ニトロ還元酵素の厳密な測定系で検討し、さらに他のニトロ系化学物質についても検索する予定である。

P-51

活性酸素産生に係わる変異株に *umu* 遺伝子導入した菌株を用いた高感度変異原検出系

小田美光 (大阪府立公衛研)

多くの発癌物質は細胞内で代謝に伴って生成する活性酸素を介してDNA損傷を与えることが最近明らかにされている。しかし、活性酸素を産生する化学物質を高感度で検出する系が未だ確立されていない。そこで、本研究はSOS反応を指標として活性酸素誘導物質を高感度に検出する系を開発する目的で、酸素ストレスによって誘導される *oxyR* 調節遺伝子を欠損したサルモネラ菌TA4107(*oxyRΔ1*)にプラスミドpSK1002を導入して新たに作成した菌株(TA4107/pSK1002)と従来の *umu* テスト用菌株(TA1535/pSK1002)とを用いて10種類の既知酸化変異原物質による *umu* 遺伝子発現を比較検討した。

対数増殖期の菌液に被検物質を添加し、37°C、2あるいは5時間振盪培養した後、常法に従い菌体内のβ-ガラクトシダーゼ活性を測定した。

10種類の物質のうち、hydrogen peroxide、cumene hydroperoxide、t-butylhydroperoxide、formaldehyde、glutaraldehydeの5種類は新しい菌株の方が従来の菌株よりも感度が高かった。両菌株で同程度の感度を示した物質はmitomycin C、phenylhydrazonium、glyoxalであり、逆にbleomycin、neocarzinostatinは従来の菌株の方が感度が高かった。以上の結果から、*oxyR* 遺伝子欠損株は活性酸素を産生する化学物質のうち特に過酸化物質やアルデヒドによるSOS反応誘導を検索できる感度の高い菌株であると考えられる。

P-52

高感度Amesテスト(microsuspension法)による室内空気汚染評価(第2報)

○玉川勝美¹、高橋陽子¹、関敏彦¹、角田行¹、後藤純雄²、松下秀鶴²
(1. 仙台市衛生研究所, 2. 国立公衆衛生院)

室内の空気汚染を変異原性を指標として評価する目的で、Kadoらのmicrosuspension法を用い、室内空気に含まれる粉塵の変異原性試験を行った。

すなわち、①所内の各実験室(変異原性試験室、原子吸光室、ガスクロ室、金属分析室、残留農薬分析室、喫煙室など)および②市内の一般家庭(居間、台所、屋外)を対象とした調査を行い、喫煙状況、暖房などとの関連性について若干の解析を試みた。

調査は平成元年2~3月の暖房期に行った。粉塵の採取には低騒音型のローボリュームエアサンプラーを用い、毎分20ℓのスピードで、12~24時間、石英フィルター上に粉塵を採取した。試験菌としては *S. typhimurium* TA98を用い、±S9mixの系で試験を行った。また、試験毎のデータの比較を行うために、大気浮遊粉塵抽出タールを標準物質として用い、データの規格化を行った。

大気浮遊粉塵抽出タールを試料とした場合には、microsuspension法はpreincubation法と比べ、+S9mixでは5.1倍、-S9mixでは11.3倍の感度が得られた。

同一家庭の居間(和室6畳)の空気中の粉塵量は喫煙日(10本)と非喫煙日で最大約27倍の変動が認められたが、変異原性(+S9mix)では最大約81倍の変動が認められた。また、各家庭の居間の粉塵量および変異原性(±S9mix)は喫煙本数と危険率1%で有意の相関性が認められた。

[文献]

玉川勝美, 他, 大気汚染学会誌, 24, 37(1989)

P-53

芽胞細菌YG系株とmicro suspension法との併用による室内空気浮遊粒子の変異原性測定

○鈴木由紀子¹、後藤純雄²、遠藤治²、片山敬¹、J. Lewtas³、松下秀鶴²
¹東京理科大、²公衆衛生院、³U.S. EPA

(目的) 室内は、大気汚染物の室内侵入のほか、喫煙、暖房、調理などからの発散物によって汚染される。また、我々は一日の大部分を室内で過ごしているため、室内空気の変異原性測定は変異原物質への暴露実態評価に極めて重要である。室内空気から得られる浮遊粒子は、通常、20~25 l/minの空気吸引量の低騒音ポンプを用いて採取されるため、屋外での用いる場合に比べて微量である。本研究では、この室内空気浮遊粒子の変異原性を測定するための手法として、YG系菌株とmicro suspension法との併用法について検討した。

(方法) 試験菌株には、芽胞細菌TA98、TA100、YG1024(TA98/pYG219)及び、YG1029(TA100/pYG219)株を用いた。変異原性試験は、micro suspension法(Kado法)に準じ、10倍濃縮の菌培養液を用いて、37°C、90分間のプレインキュベーションを行った。室内空気粒子は、各8時間採取し、その溶媒(ジクロロメタン)抽出物を試験に供した。

(結果) 得られた結果の大要は次の通りである。① micro suspension法は Ames preincubation法より約10倍感度が高く、pYG219プラスミド導入株は元の株より数倍感度が高い(大気浮遊粉じん溶媒抽出物を用いた場合)ため、両者を併用した本法は通常の方法より数十倍高感度となり、作業時間内の室内空気試料の変異原性測定を容易に測定し得るようになった。②本法を室内浮遊粉じんの変異原性測定に適用した結果、喫煙室は、非喫煙室よりも高い変異原比活性(rev./m³)を与えることなどを認めた。

P-54

変異原性モニタリング手法としてのスパイラルアッセイ法の検討

○後藤純雄¹、V.S. Houk²、L.D. Claxton²、松下秀鶴¹(¹国立公衆衛生院、²U.S. EPA)

(目的) 環境汚染物の変異原性をモニタリングするためには、多くの地点で定期的に採取された多数の試料を測定して評価する必要がある。このための試験法としては、再現性が高く、比較的高感度で、かつ自動化された手法であることが望ましい。本研究では、米国EPAのグループにより自動化手法として開発されたスパイラルアッセイ法をとりあげ、変異原性のモニタリング手法として必要な事項についての検討を行った。

(方法) 試験菌株には、サルモネラ菌TA98、YG1024(TA98/pYG219)株を用いた。環境試料には、大気浮遊粉じん(1989年2月から3月にかけて国立公衆衛生院屋上で採取された)の溶媒(DCM)抽出物を用いた。試験装置には、米国スパイラルシステム社製のスパイラルプレーター及びレーザーコロニーカウンター(データプロセッサー付)を用いた。

(結果) 得られた結果の大要は次の通りである。①1つのプレートからdose-response結果を得ることが出来るため、Ames法の約1/10(≒microsuspension法)の試料量でも変異原性の検出が可能であった。②大気浮遊粉じん溶媒抽出物は、TA98株よりもTA98/pYG219株に対して高い変異原比活性(rev/μg)を与えた。③再現性の検討において得られた変異原比活性の変動係数は、通常のAmes法と同等か又は若干高かった。今後、使用菌濃度の影響、再現性の改善などに関する検討が必要であるが、本法は変異原性モニタリング手法として有用であることが示唆された。

P-55 YG株による環境汚染物質の変異原性

○遠藤治¹、松下洋久²、望月正隆²、松下秀鶴¹
(¹公衆衛生院、²共立薬大)

(目的) 最近、ニトロ還元酵素やアセチル転移酵素の高生産性プラスミドをもつ高感受性変異原性試験菌株が報告されている。本研究では、これらYG菌株の環境汚染物質に対する有効性を調べることを目的として、8種類のジニトロピレンを含む21種類のニトロアレン、及び大気浮遊粉じんの変異原性試験を行った。

(方法) 試験菌株は、TA98、TA100、これらにニトロ還元酵素高生産性プラスミドを導入したYG1021(TA98/pYG216)、YG1026(TA100/pYG216)、アセチル転移酵素高生産性プラスミドを導入したYG1024(TA98/pYG219)、YG1029(TA100/pYG219)の6菌株を用いた。YG株は国立衛生試験所・石館部長より恵与された。変異原性試験は、S9mix添加・無添加両条件下でプレインキュベーションにより行った。

(結果) ①被験ニトロアレンは、いずれの菌株に対してもS9mix添加条件下よりも無添加条件下で強い変異原性を示した。②ニトロアレンに対する感受性は、多くの場合、アセチル転移酵素高生産性菌株>ニトロ還元酵素高生産性菌株>対照株の順であった。③TA98系の菌株では、1~2環ニトロアレンに対してはYG1021の感受性が高く、対照株(TA98)の4.3~37倍高い値を示した。これに対して3~4環ニトロアレンに対してはYG1024の感受性が高く、対照株(TA98)の4.2~640倍高い値を示した。④TA100系の菌株では、YG1029の感受性が高く、2,6-ジニトロピレンを除いて、対照株(TA100)の2.6~620倍高い値を示した。⑤YG株の大気浮遊粉じんにに対する感受性は、対照株の1.4(YG1026、-S9)~4.5(YG1024、+S9)倍高い値を示し、また、対照株のそれと良い相関が認められた。⑥これらの結果は、YG菌株が環境中のニトロアレンの変異原性検出に有効であることを示唆している。

P-56 YG1021, YG1024株に対するニトロアレンの変異原性

○堀川和美、世良暢之、甲斐麻美子、常盤 寛
(福岡県衛生公害センター)

ニトロアレンを活性化する酵素系としては、ニトロレダクテース及びアセチル転移酵素系がすでに分かっている。今回、これらの活性化酵素を支配するプラスミドをTA98株に導入して作られたYG1021及びYG1024株(国立衛試より分与)を使ってニトロアレンの変異原性を検討した。また、還元酵素欠損株TA98NR, TA98/1,8-DNP₆を併用しニトロアレンの活性化酵素系について再検討を行った。使用したニトロアレンは7種のニトロピレン類、5種のニトロフルオランテン類及びその他のニトロアレン9種の計21種である。検討の結果、1,3-, 1,6-及び1,8-ジニトロピレン(DNP)はいずれもYG1024株に高い変異原性を示し、TA98株のそれと比較すると13~33倍の活性値を示した。また、3,7-及び3,9-ジニトロフルオランテン(DNF)はTA98NR, TA98/1,8-DNP₆株では明かな変異原性の減少は認められなかったが、YG1024に対し、高い活性を示した。これらのことから、DNP_s, DNF_sは明らかにアセチル転移酵素によって活性化される変異原であることが分かった。また、4,4'-ジニトロビフェニール、2-ニトロフルオレンは両酵素によって活性化されるタイプの変異原である。これに反し、ニトロレダクテースによる活性系としては1-ニトロピレンのみであった。

P-57 燃焼ガス状成分の変異原性試験

○河合昭宏¹、後藤純雄²、遠藤 治²、松下秀鶴²
(¹日本自動車研究所、²国立公衆衛生院)

様々な燃焼排気粒子成分の変異原性についての報告は多いが、燃焼に伴って排出されるガス状成分の変異原性についての報告は極めて少ない。我々は、エームス試験法を応用してガス状成分の変異原性試験のためのガス暴露装置を試作し、適切な試験条件を検討した。この試験方法により、ディーゼル排ガス、石油ストーブ燃焼排ガスの変異原性を調べた。

変異原性試験はSalmonella typhimurium TA100, TA98株を用い、代謝活性化の有無の両条件で行った。ガス暴露は、試験菌をトップアガーを用いないで直接塗布した試験プレートにパイレックスガラス製の暴露チャンバー(8 l)に逆さに設置し、被験ガスを通気することにより行った。

最適ガス暴露試験条件を求めるための試験は、希釈トンネルで15倍に希釈したディーゼル排ガスを石英フィルターに通して粒子成分を除き、得られた被験ガスを、流速0.25-20 l/分、暴露時間2-16時間、チャンバー温度30, 37°Cの各条件で暴露チャンバーに導入することにより行った。これらの試験結果から、最適試験条件は、ガス流速0.25 l/分、暴露時間2-4時間、チャンバー温度37°Cであることがわかった。

上記結果をもとに、ディーゼル排ガスおよび石油ストーブ燃焼排ガスを石英フィルターを介して所定量の新鮮空気を含むテドラバッグに一定量導入し、これをさらに新鮮空気希釈して暴露チャンバーに導入した。その結果、両被験ガスともTA100, TA98株に対してS9mixの有無にかかわらず変異原性を示した。また、両排ガスとも粒子状成分よりも高い変異原性を示す傾向が示唆された。

P-58 ガス状物質の培養細胞を用いる染色体異常試験

○浅倉真澄¹、鶴井淑江¹、山岸美紀¹、野崎亘右¹、松島泰次郎² (¹日本バイオアッセイ研・変異原、²東大医科研・癌生物)

目的: ガス状物質の変異原性を調べるため、水に溶けにくい有機ハロゲン化合物を種々の条件で培養細胞にばく露し、染色体異常誘発性を検討した。

実験方法: チャイニーズハムスターの線維芽細胞株(CHL)を単層培養した培養角びんに、流量計で制御したガス状物質を導入し、37°Cインキュベータ内で回転させた。細胞は一定周期でガスと培養液にさらされる。CHLはばく露の操作以外はE.MEM+10%CSを用いCO₂インキュベータで培養した。この方法により①培養液②ばく露時間③回転数④希釈ガス⑤代謝活性化⑥強度比較の検討を行った。結果及び考察: ①PBS(+)とHanks MEM+10%CSではPBS(+)の方がより強く誘発された。②2, 4, 6, 24hrばく露で長時間ばく露ほど低濃度で異常を誘発した。③0.25, 0.5, 1.0, 2.0rpmの回転数による明確な差は認められなかった。④Air, N₂, Heを希釈ガスとして用いるとN₂, HeがAirより若干低い誘発率を示した。⑤S9Mix 5%を含む培養液を添加して、塩化ビニルを6hr暴露すると、-S9の約1/100の濃度で異常が観察された。⑥染色体異常誘発強度は臭化メチル>塩化ビニル>塩化メチル>塩化エチルの順になった。但し塩化ビニルは-S9の場合では最も弱い誘発率を示した。

培養細胞に直接ばく露する今回の方法は、低濃度長時間ばく露も、S9添加で代謝活性化も可能であり、ガス状物質の染色体異常試験の方法として有用である。

P-59 ショウジョウバエ翅毛スポット試験による非癌原物質の検討

○蒲谷京子, 小林真理子, 井上裕章
吉川邦衛

(三菱化成総合研 第2研究部門安全性研)

〔目的〕ShelbyとStasiewicz (1984) は、化学物質の癌原性予測を目的とする短期試験において、非癌原物質のデータが極めて乏しいことを指摘した。これを契機に、非癌原物質を供試した短期試験法の評価が行われている。翅毛スポット試験は、代謝活性化が必要なものを含む多種多様な癌原物質に対し、92% (52/63) もの高い検出力を有することが証明されているが(Würglerら、1985)、非癌原物質に関する検討は未だなされていない。

〔方法〕試験物質を混餌法により48~72時間幼虫に摂食させ、多翅毛大スポットの出現率を調べた。陽性対照物質として、ショウジョウバエに対し弱い変異原性を示すAF-2を用いた。

〔結果〕NTP, NCI 両機関で実施された発癌性試験で陰性と判定された22の非癌原物質を供試した結果、2,6-diaminotoluene以外は全て陰性となった。本試験法は、他の短期試験法と比較して、偽陽性結果の少ない試験法であることが証明された(表1)。

表1. 5試験共通の22非癌原物質の陰性率

試験法	陰性率 (%)	検数 (n/N)
翅毛スポット試験	95%	(21/22)
Ames試験 ^{a)}	86%	(19/22)
L5178Y細胞突然変異試験 ^{a)}	41%	(9/22)
CHO細胞染色体異常試験 ^{a)}	59%	(13/22)
CHO細胞SCE試験 ^{a)}	36%	(8/22)

a) Tennant ら(1987)

P-60 ショウジョウバエ翅毛スポットテストによるAflatoxin類の構造と強さの関係

○柴原俊一¹, 梁治子², 津志本元¹, 野村大成²

(¹大塚製薬徳島研究所, ²大阪大学医学部)

ショウジョウバエの*in vivo* DNA修復試験において、多環芳香族の構造-活性の関係は、マウス・ラットでの構造-発癌強度の関係とよい相関を示した(藤川ら、1987)。更に、Aflatoxin B1, B2, G1およびM1について、上記の試験での強さはG1 ≧ B1 > M1 > B2であり、ラットでの構造-発癌強度の関係とよい相関を示した(柴原ら、1988)。そこで、体細胞突然変異検出系である翅毛スポットテストにおいても活性と発癌性が相関を示すかどうかを上記Aflatoxin類について調べた。各AflatoxinをDMSOに溶解してInstant medium中に混入し、[mwh +/+ flr]型3令幼虫に経口投与した。結果をFig. 1に示す(SS, small single; LS, large single; T, twin)。Aflatoxin類の翅毛スポットテストにおける相対的強度について検討する。

Fig. 1. Wing Spot Test of Aflatoxins.

Chemical	Dose (μg/ml)	Spots per Wing	
		SS	LS + T
B1	5	0.61*	0.31**
G1	5	0.89**	0.45**
M1	1	0.58	0.22*
B2	5	0.43	0.13
DMSO	(0.5%)	0.37	0.05

*0.01 < p < 0.05; **p < 0.01

P-61 ショウジョウバエ翅毛スポットテストはマウス小核試験による癌原性予測を補完できるか

○原 巧, 澁谷徹 (食薬センター・秦野研)

近年、癌原性の短期予測において、*in vivo* 試験の重要性が認識されつつある。その中で、マウスの骨髄細胞を用いる小核試験は比較的簡便な哺乳動物の試験であるため、安全性試験の種々のガイドラインに採用され、広く実施されている。しかし、Heddleら(1983)の総説によれば、小核試験ではこれまで知られている癌原物質50種のうち、ジエチルニトロソアミンを初めとする25種については陽性の結果が得られていない。この中には不十分な試験によるものも含まれているが、小核試験で検出し難い癌原物質と考えられ、他の短期*in vivo* 試験でマウス小核試験を補う必要性が生じてくる。小核試験で陽性結果が得られていない25種の発癌物質のうち7種については、これまでにショウジョウバエ翅毛スポットテストの結果が報告されており、すべて陽性であった。そこで演者らは残りの化合物について翅毛スポットテストを行い、この試験が癌原性予測においてマウス小核試験を補完できるかどうかの検討を開始した。現在のところ3-アミノトリアゾールおよびメトロニダゾールに関する結果を得ており、前者は翅毛スポットを高頻度に誘発し、陽性であったが後者は疑陽性であった。今後更に調べる化合物の数を増やして、総合的に考察する。

P-62 *S. typhimurium* のO-アセチル転移酵素およびニトロ還元酵素遺伝子のCHL細胞への導入

○松岡厚子, 能美健彦, 渡辺雅彦, 祖父尼俊雄, 石館基 (国立衛試・変異遺伝)

*In vitro*染色体異常試験では、被験物質の代謝活性化を目的として、S9 mixが用いられている。しかし、細胞自身に特定の薬物に対する代謝活性化機能を付与することができれば薬物の作用機序についてより詳細に検討することができると思われる。

ニトロ還元酵素(NRase)およびO-アセチル転移酵素(OATase)はニトロアレーン、芳香族アミンの*S. typhimurium* 菌体内における変異原性発現の律速となっている酵素である。我々はこれまでに、*S. typhimurium* TA 1538株からNRase, OATase遺伝子をクローニングしたことを報告した¹⁾。今回我々は、上記遺伝子をチャイニーズ・ハムスターCHL細胞に導入し、ニトロアレーンおよび芳香族アミン類に対して高感受性の細胞株を開発することを試みた。

制限酵素HincII, NruIで切り出したOATase遺伝子の活性部位を、SmaIで切断した哺乳動物細胞における発現ベクターpMSGにblunt end ligationで挿入し、OATase遺伝子をもった発現ベクターを構築した。現在、これらをリン酸カルシウム沈澱法でCHL細胞に導入し、HAM(hypoxanthine, aminopterin, mycophenolic acid)耐性となった形質転換細胞を選択している。遺伝子の発現については、酵素活性を生化学的に測定すると共に、染色体異常誘発性に対する感受性についても比較する予定である。なお、NRase遺伝子についても同様の検討を行っている。

1) Watanabe et al., Biochem. Biophys.

Res. Commun., 974-979, 1987

P-63

インターカレーターの Cell transformation 試験

小木曾重文¹, 野本邦子¹, ○山田徹¹, 吉武彬¹, 宮本純之² (住友化学安全性研¹, 宝塚総研²)

株化細胞の癌化を指標とした化学物質の癌原性検出法として Cell transformation 試験がある。今回、インターカレーション作用を持つ化合物4種について Cell transformation 試験を行った。

Balb/c 3T3(A31-1)細胞を、 $4\sim 5 \times 10^4$ cells/dishで播種し24時間前培養した後、Actinomycin D(1, 2, 4 ng/ml), 9-Aminoacridine hydrochloride(0.5, 1, 2 μ g/ml), Daunomycin hydrochloride(7.5, 15, 30 ng/ml)または、Doxorubicin(Adriamycin; 15, 30, 60 ng/ml)で3日間処理した。処理後の細胞を、 $4\sim 5 \times 10^4$ cells/dishの割合で播き直し、5週間培養後に出現したフォーカス(Type II, III)を計数した。

9-Aminoacridine hydrochloride, Daunomycin hydrochlorideおよびDoxorubicin処理群では、溶媒対照に比べて有意な数のType III フォーカスが出現し、濃度依存性が認められた。一方、Actinomycin D処理群では有意な数のフォーカスの出現は認められなかった。

P-64

変異原物質高感受性を示すチャイニーズ・ハムスター培養細胞株の分離、特性確認および応用

○鈴木昭浩、大脇美枝、園明 (東洋醸造株式会社・リサーチセンター・安全性研究所)

チャイニーズ・ハムスターDon D-6細胞系を mutagenizeして得たTR47/20-1細胞は、変異原物質に対して以下のような感受性を示した。

(1) 細胞致死性においては、Methyl methane sulfonate (MMS), ethyl methanesulfonate (EMS)等に対しDon D-6と同等の、UV、Mitomycin C (MMC)、diepoxybutane、4-nitroquinoline 1-oxide (4-NQO)等に対してはDon D-6の二倍強の高感受性を示した。

(2) 染色体異常誘発性においては、MMS、EMS に対してDon D-6と同等の、UV、MMC、4-NQO に対して高感受性を示した。

(3) 姉妹染色分体交換においては、各種変異原に対してDon D-6と同等、またはやや低い感受性を示した。

(4) 薬剤耐性突然変異においては、各種変異原に対してDon D-6の二倍強の高感受性を示した。

(5) 不定期DNA合成能、caffeine感受性DNA損傷修復能はDon D-6と同等であった。

これらの特性は、我々が先に分離、報告 (Mutation Res., 129, 181-194, 1984; Somat. Cell Molecul. Genet. 14, 329-344, 1988) した変異細胞株のそれとは異なる事から、DNA損傷修復能等を含め比較検討を行った。

本細胞はある種の変異原物質の突然変異誘発性検出に有用であると考えられる。

P-65

マウス腸上皮細胞の染色体観察

○大山わか、徳光 崇 (ヤクルト中研)

マウスの消化管上皮細胞の染色体を観察する技術を開発した。この技術は、医薬品をはじめ、食品等の経口投与物質の試験にも、利用可能な方法を提供することになる。

(染色体標本作製方法) ICR系マウス(雄、4~7週齢)に、コルヒチンを腹腔投与し、1時間後、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸を摘出した。腸管をそれぞれガラス棒に裏返し、EDTA中で30分処理した後、振動により細胞を集めた。標本作製は通常の方法によったが、低張処理温度及び固定液の組成を変えて行った。低張処理は30℃で行い、固定液は①メタノール:酢酸=3:2の混合液、②その60%希釈液を用いた。

この結果、十二指腸から結腸まで、各部位100個以上の細胞で観察が可能であり、染色体異常試験を行うには充分であった。

無処置マウスで、腸管各部位の染色体異常出現頻度を調べたところ、0~2.3%であった。

現在、胃上皮細胞の染色体観察技術の開発と共に、変異原性物質の投与試験も進めている。

P-66

骨髄赤芽球を用いたUDS試験

○宮前陽一、藤野安宏、宮本厚司、平井収、野口英世 (藤沢薬品工業 安全研)

骨髄赤芽球および肝細胞のUDS反応について、マイトマイシンC (MMC)およびジメチルニトロソアミン (DMN)を用いて比較・検討した。

In vivo/in vitroの系では、F344系雄ラット(10~12週齢)にMMC (2.5, 5mg/kg)あるいはDMN (10mg/kg)を腹腔内投与し、2および16時間後に骨髄および肝細胞を単離し、2時間の³Hチミジン処理を行った。In vitroの系では、骨髄有核細胞および単離肝細胞をMMC (1~100 μ g/ml)あるいはDMN (1000 μ g/ml)で30分処理した後、2時間の³Hチミジン処理を行った。UDS反応は、オートラジオグラフ処理した標本のグレイン数を、画像解析装置により計測し、グレイン数の変化により判定した。

骨髄赤芽球では、in vivo/in vitroおよびin vitroのいずれの系においても、MMCおよびDMNのUDS誘発作用は非常に弱かった。一方、肝細胞では、in vivo/in vitroの系においてMMCのUDS誘発作用はみられず、in vitroの系でのみその作用が明らかに認められた。

以上、本試験において、骨髄赤芽球と肝細胞では、薬物に対するUDS反応が異なることが明らかにされた。

P-67 小核試験の結果に与える染色液pHの影響について

○戸田昌平¹, 鈴木勇司², 川崎一也¹, 清水英祐² (¹BML 安全性, ²慈恵医大 公衛)

血液細胞の評価にGiemsa染色が一般的に用いられている。このGiemsa染色液の調製に用いるリン酸緩衝液(以下緩衝液)のpHを変化させることで細胞質の染色性が変わり細胞質の色調に変化を与える。小核試験は標本を色調で多染性と正染性赤血球に分類している。我々はGiemsa染色液を調製する緩衝液が小核試験の結果に与える影響を検討した。また、クエン酸処理についても検討を加えた。

〈方法〉小核試験はddY雄マウス9週齢を用いMitomycin C(0.3, 0.5 mg/kg)を腹腔内に1回投与した。染色はMay-Grünwald-Giemsa染色を行いGiemsa染色液を調製する緩衝液のpHを5.4, 6.0, 6.4, 7.2とした。クエン酸処理の場合はpH6.4のGiemsa染色液で染色後、0.004%クエン酸水溶液に3~4秒浸した。なお、試験は1用量当たり4匹のマウスを使用し、同一の動物から採取した塗抹標本をpHの異なる緩衝液とクエン酸処理等で染色した。

〈結果〉1.緩衝液pHの低下によりP/N比が減少する傾向を示した。2.緩衝液pHの低下により多染性赤血球中の小核出現頻度の低下が認められた。3.さらにクエン酸処理によりP/N比が低下する傾向を示した。

〈考察〉緩衝液pHを変えると細胞質中の蛋白質と色素との結合度合に影響し染色性が変化する。従って緩衝液pHを低下させると、本来多染性赤血球であったものが正染性赤血球として観察されることになると考えられる。以上の結果から小核試験では染色方法、特にpHについて吟味し明記すべきであると考えられる。

P-68 5-Fluorouracilの小核試験における連投効果

○大内田昭信¹, 古川明美¹, 梅野幸彦¹, 田村博信², 堀谷尚古³, 原巧³, 加藤基恵³, 渋谷徹³, (¹大鷗薬品, ²日本新薬, ³食薬安全センター,)

我々、3研究機関はJEMS・MMS分科会の小核試験共同研究グループの共同研究(小核試験における投与回数の検討)として、核酸の代謝拮抗剤である5-Fluorouracil(5-FU)を担当し、小核試験における連投効果について調べた。

共同研究のプロトコールに従い、オリーブ油で懸濁された5-FU(6.25~50mg/kg)を8週令のCD-1雄マウスの腹腔内に、1, 2あるいは4回投与した。最終投与後、6, 24, 48あるいは72時間後に小核標本作製し、小核の出現頻度を調べた。その結果、小核の出現頻度は5-FUの単回投与でも若干の増加がみられるが、2回、4回と投与回数が増加するに伴い、小核の出現の増加がし、用量依存性も観察された。

現在、溶媒として生理食塩水を用いて、追試を実施しており、溶媒による違いについても合わせて報告する。また5-FU投与後の血中動態についても調べており、小核の出現頻度と5-FUの血中濃度との関係についても報告したい。

P-69 Benzo[a]pyreneの小核試験における投与回数の影響

○島田弘康¹, 佐武左知子¹, 伊東悟¹, 服部千春¹, 林真², 石館基² (¹第一製薬, ²国立衛試)

小核試験の投与回数に関しては未だ検討の余地が多い。標本作製の至適時間を求めれば1回投与でもほとんどの小核誘発物質が検出可能であるが、そのための予備試験が繁雑である。また一部の代謝拮抗剤では1回投与では弱い陽性反応しか得られない。Schmidの原法である2回投与法では6時間目のサンプリングの意義が不明である。また小核試験における連投効果の検証も十分ではない。今回我々は、国際協力の共同研究の一環として、統一プロトコールによるBenzo[a]pyrene(B[a]P)の投与回数に関する検討を行った。

はじめに投与量設定のための予備試験を行ったのち、8週令のCD-1系雄性マウスにB[a]Pの250, 500, 1000あるいは2000mg/kgを1, 2あるいは3回経口投与し、最終投与後24時間目に骨髓塗抹標本作製して、アクリジンオレンジ染色による蛍光観察を行った。その結果、小核誘発頻度は2回投与の場合が最も高く、3回投与になるとむしろ減少した。また投与回数にかかわらず500mg/kg群で最も高い小核誘発作用が認められた。

P-70 小核試験における投与回数の効果—フェナセチンの場合

須藤鎮世¹, 三井洋司², 戸田昌平³, 関島勝³, 川崎一也³, 安藤信明⁴, 川田敏恵⁴, 阿部俊一⁴, 岩井正和⁴, 有村博文⁴ (¹伊藤ハム中研, ²通産省微工研, ³相互医学生物研, ⁴ミドリ十字安全研)

これは小核試験共同研究グループ(CSGMT)と同国際共同研究班(ICS)との小核試験における投与回数の影響研究のうち、フェナセチンでの試験結果を示す。CSGMTプロトコールでは1, 2, 4回腹腔内投与後6, 24, 48, 72時間後に標本作製、ICSでは1, 2, 3回投与後24時間目に標本作製した。動物は8週令マウスで、溶媒はオリーブ油を用いた。

最初、CSGMTの前の試験結果を参考に、300, 150, 75, 37.5 mg/kgを用いた試験を行なったが、結果はすべて陰性であった。新たに一群5匹の動物を用いて毒性試験を行い、1, 2, 3回投与時のLD50値を各1274, 912, 736 mg/kgと求めた。これより投与量を600および400 mg/kgとし、再試験を行った。その結果、1回投与に比べ2, 3回投与では、連投の効果が認められた。が、4回投与では小核誘起はほとんどみられなかった。投与後48, 72時間目では小核頻度は低かった。2回投与後6時間目と24時間目とは24時間目がよかった。

以上から、2または3回の連投がよいこと、Schmidの原法(2回投与—6時間目標本)より、24時間目標本作製がよいこと、連投で小核頻度がほぼプラトーとなったところで標本作製すると、1回の作製ですむことがわかった。2回と3回とは大差なく、2回で十分と考えられた。しかも、1回投与のLD50値の約50%を指標に用量をきめれば、そのまま2回投与に適用でき、好都合である。

P-71 小核試験における投与回数の影響

小核共同研究グループ (JEMS, MMS)
(世話人代表、佐藤精一 (日本タバコ))

表記を検討するため、マウスに検体3用量を1, 2, 4回腹腔内投与し、6, 24, 48,あるいは72時間後に骨髄標本作製、小核の頻度を調べた。用いた検体は2-AAF, ARA-C, DMBA, EMS, ENU, 6-MP, phenacetin (PHEN), 5-FU, methotrexate (MTX), benzene (BEN), およびK2CRO4の11である。核酸合成阻害剤MTXは1回投与で反応はごく弱く、多回投与で明確に陽性となった。塩基類似物質5-FUと6-MPとは1回投与でも陽性だが、多回投与の効果は明白であった。ENU, DMBA, BENも多回投与の効果があるが、4回投与では用量により骨髄抑制が強く、2回投与がすぐれていた。PHENは2回投与の効果はあったが、4回投与では逆に小核の誘起が見られなくなった。EMS, ARA-C, K2CRO4では多回投与の効果は明白ではなく、1回投与と2回投与とで、類似の小核頻度を示した。

2回投与後6時間目に標本作製というSchmidの原法より、2回投与後24時間目に標本作製というSchmid変法の方が、はるかに感度がよかった。この変法は以下の利点により推奨される。1),他の方法にくらべ感度が高く、すべての被験物質で陽性となった。2),小核頻度がほぼプラトーに達したところで標本作るので、1回の標本作製ですむ。3),多回投与効果のある物質に対し有効であると共に、骨髄抑制が過度になる前に標本が作製できる。4),多回投与の効果のない物質でも、1回投与と類似の反応を示す。5),用量設定で、例えば1回投与のLD50値の50, 25, および12.5%をそのまま適用できる。代謝阻害剤や塩基誘導体、その他遅効性である疑いのあるものは、2回投与後48時間目にも標本作製すれば、スクリーニングとしてさらに有効となる。

P-72 染色体異常, 小核, 姉妹染色分体交換 (SCE) を指標にしたラットの肝臓における発癌物質のin vivo 検索法

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

[目的] 前回, 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 検索法を肝臓で報告した。染色体異常, 小核, SCE を指標にした肝癌原物質の in vivo 短期検索法について報告する。

[方法] 7週齢のF344雄ラットにdimethylnitrosamine (DMN) 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, EGF存在下48時間培養した。培養後, 常法に従い, 染色体標本, SCE標本 (FPG染色), 小核標本 (ホイルゲン染色) をそれぞれ作製した。観察は, 動物当たり染色体異常: 100個, 小核: 5000個, SCE: 25個の細胞についてそれぞれ行った。

[結果] 50ng/ml EGF存在下で肝細胞を48時間培養すると, 細胞数が1.4倍, Mitotic index が6.9倍に増加した。DMNは体重1kg当り2.5~20mgの投与で, 投与2~48時間後に, 染色体異常: 63.5倍, 小核: 2.0倍およびSCE: 1.6倍の誘発が認められた。肝細胞の染色体は2nが16%, 4nが82%であったが, DMN投与後時間とともに2nが増加し, 投与48時間後では2nが43%, 4nが54%であった。2-acetylaminofluorene およびCCl₄の結果も報告する。

[結論] 本法により, 肝癌原物質の臓器特異的なイニシエーター活性を短期間で検索できた。

P-73 Cyclophosphamideのマウス胎仔における小核と奇形誘発との関係

○堀谷尚古, 松田 洋, 加藤基恵, 原 巧
澁谷 徹 (食薬安全センター秦野研究所)

抗腫瘍剤のCyclophosphamide (CP) は生体内に取り込まれると肝臓で代謝をうけて活性化され, DNAをアルキル化することにより変異原性を示すと考えられている。CPはマウスの骨髄細胞に小核を誘発するとともに妊娠10~14日目のマウスに投与すると胎仔に高い頻度で種々の奇形を誘発する。そこで今回我々は, CPを妊娠マウスに投与し, 胎仔と雌親における小核出現頻度と奇形発現との関係を調べた。

9週齢のマウス (Slc; C57BL/10) を交配した後, 妊娠12日目の雌マウスの腹腔内に12.5, 25および50mg/kgの用量でCPを投与し, 胎仔の血液, 肝臓および雌親の骨髄細胞の小核標本をそれぞれ経時的に作製した。

その結果, 胎仔小核は経時的に増加し, 雌親の骨髄細胞より高く, 明らかな用量依存性もみられた。さらにCPを投与した妊娠18日目の胎仔の奇形についてはおもに眼瞼開裂, 口蓋裂などが用量に依存して誘発された。また肝ミクロソームの薬物代謝酵素を誘導するフェノバルビタールを前投与した後, CPを投与した場合の小核と奇形の誘発頻度についても調べ, マウス胎仔の奇形と小核誘発との関連について考察したい。

P-74 マウス胎仔を用いるMETS試験 (Mouse Embryo Test System) の提案

○澁谷 徹, 堀谷尚古, 松田 洋, 畔上二郎, 原 巧, 今井 清 (食薬センター秦野研)

これまで変異原性試験は種々の生物種を用いて段階的に実施し, ヒトへの影響を調べる方法が一般的であった。しかしこの方法では十分な生物学的考察に欠ける傾向があった。

私達はこれまでにN-ethyl-N-nitrosourea (ENU) の経胎盤投与による, マウス胎仔の体細胞および始原生殖細胞における突然変異, 奇形および腫瘍の誘発について調べてきた。そしてこれらの誘発頻度や誘発される部位がマウス胎仔の発生時期に大きく依存していることが認められた。

これらの異なった事象は経胎盤投与されたENUによって, 標的となるマウス胎仔細胞のDNA塩基のアルキル化と細胞の状態 (細胞周期, ターゲットサイズおよび分化の程度など) との相互作用によってその発現が決定されたものと考えられる。また突然変異, 奇形および腫瘍の誘発は「変異した幹細胞」という概念で統一的に説明出来るのである。

化学変異原物質による突然変異, 奇形および腫瘍の誘発に対しては, これまでそれぞれ関連性のない別々の試験として実施されることが多い。今回私達は突然変異, 奇形および腫瘍の誘発を同時に試験出来るマウス胎仔試験を提案し, その有用性について論議したい。

P-75

抗 BrdU 抗体法によるヒトリンパ球小核試験法

○林真¹, H. Norppa², J. Maki-Paakkanen², M. Sorsa², 祖父尼俊雄¹, 石館基¹ (¹国立衛試・変異遺伝, ²Inst. Occup. Health, Helsinki)

ヒトリンパ球を用いる小核試験は、化学物質暴露者の細胞遺伝学的モニタリングの一手法として注目されている。本法の精度を向上するためには、観察対象を培養開始後1度分裂した(2nd cycle)細胞集団に限定することが重要である。この目的のために細胞質分裂を阻止する cytochalasin B (Cyt B) で処理し、2核細胞を観察対象とする方法が用いられている。しかし、Cyt B には細胞毒性があり、異常分裂に伴って小核が誘発される。そこで、我々は低濃度の bromodeoxyuridine (BrdU) を取り込んだ細胞を免疫学的方法により検出し、観察対象集団とする方法について検討を行った。方法の概略を以下に示す。

1) BrdU (5 μg/ml) 存在下でリンパ球を培養, 2) 2倍希釈胎仔血清で低調処理, 3) メタノール・酢酸で固定, 4) Air-dry 法で標本作製, 5) 40% formamide にて70°Cで15分間熱処理, 6) 抗 BrdU 抗体で1次処理後, FITC または peroxidase conjugated 抗体で2次処理, 7) FITC の場合は直接蛍光顕微鏡で観察, peroxidase は diaminobenzidine を基質として組織化学的に染色。

その結果、培養時間および BrdU 処理時間を調整することによって、細胞集団の大半を 2nd cycle 細胞として染め分けることができた。本法は、顕微鏡観察はもとより、イメージアナライザーによる自動化への応用も可能である。

P-76

アルカンジアゾテートのチャイニーズハムスターV79細胞に対する変異原性

○鶴川さと子、望月正隆 (共立薬大)

カリウムアルカンジアゾテート(R=N=N-OK)は水溶液中で N-ニトロソ化合物のアルキル化活性中間体(R=N=N-OH)へ容易に変換する。このアルカンジアゾテートにはN=N結合に関して2種類の幾何異性体(E, Z)が存在する。アルキル基がメチルからブチルまでの(E)-および(Z)-カリウムアルカンジアゾテートは3種の細菌(S. typhimurium TA1535, E. coli WP2, E. coli WP2hcr⁻)に対して変異原性を示し、いずれの菌においてもE体の方がZ体よりも変異原活性が強いことをすでに報告した(第16回大会)。また、水溶液中でのニコチンアミドに対するアルキル化活性はE体とZ体でほぼ同程度であり、このアルキル化活性とSalmonellaに対する変異原性の間には良い相関が認められた。

今回は(E)-および(Z)-カリウムアルカンジアゾテートのチャイニーズハムスターV79細胞に対する変異原性を検定した。変異原性の指標には細胞のOuabain耐性を用い、各ジアゾテートの単位濃度(mM)あたりの変異原性(比活性)を求めて変異原性の強さを比較した。E体の変異原活性はメチル>エチル>プロピル≒ブチルの順に低下し、Z体の活性はE体よりも低かった。これらの結果はSalmonellaを用いたときの結果と同様だった。メチル基をもつE体では強い細胞毒性が観察された。さらに各ジアゾテートの比活性とニコチンアミドに対するアルキル化活性を比較したところ、両者間には良い相関がみられた。すなわち、V79細胞においても各化合物のアルキル化活性が変異原性を決定する一つの重要な因子であることが明らかとなった。

P-77

1-ニトロピレン投与ラット胆汁中の代謝産物特にグルタチオン抱合体とその腸管内での代謝について

○木内 武美、西藤 佳子、大西 克成 (徳島大・医)

1-nitropyrene (1-NP) には還元的代謝経路と酸化的代謝経路があり、酸化的代謝活性化体は 1-NP oxides であることが知られている。今回は、1-NP 投与ラット胆汁中の 1-NP oxides のグルタチオン(GSH)抱合体の分析と腸管内での代謝について検討したので報告する。 [³H]1-NP を Wistar ラットに経口投与すると48 hr以内に約 55% が胆汁中に排泄され、その胆汁を分析すると 1-NP oxides の GSH 抱合体及びその分解産物である 1-NP oxides-cysteinylglycine 抱合体と 1-NP oxides-cysteine 抱合体が検出された。これらの抱合体は胆汁排泄量の 21.4% であり、そのうち 1-NP 4,5-oxides-GSH 抱合体は 2.6%、1-NP 9,10-oxides-GSH 抱合体は 10.4% であった。GSH 抱合体と各種腸管内容物を混合すると、分解活性は小腸内容物が最も強く、胃、盲腸及び大腸内容物の分解活性は弱かった。GSH 抱合体は小腸内容物によって cysteinylglycine 抱合体となり、さらに cysteine (Cys) 抱合体にまで分解された。この分解活性は各種細菌、腸管粘膜、及び胆汁に比して腭液が著しく高かった。次いで Cys 抱合体の分解活性を調べると小腸内容物にはなく、盲腸及び大腸内容物に強い活性があることがわかった。この活性は、腸管内常在細菌叢に由来し 特に *Eubacterium limosum*、*Peptostreptococcus magnus*、*Streptococcus faecalis* 及び *Escherichia coli* が強かった。また、一般的に嫌気性菌の方が好気性菌よりも高い活性を示した。

P-78

1-Nitropyrene oxides 及びその抱合体の変異原性と吸収について

○西藤 佳子、木内 武美、大西 克成 (徳島大・医)

1-ニトロピレン(1-NP)は生体内では還元的及び酸化的に代謝され、酸化的活性体である 1-NP oxides はグルタチオン(GSH)抱合体として胆汁中に排泄される。その GSH 抱合体は、腸管内で cysteinylglycine 抱合体を経て cysteine (Cys) 抱合体にまで分解される。今回は、これらの抱合体がそのまま糞便中に排泄されるのかどうか、またそれらの抱合体の変異原性について検討したので報告する。

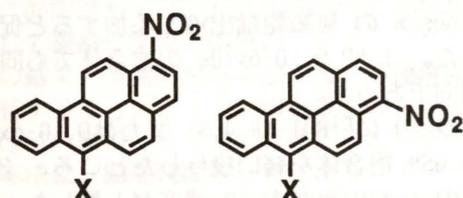
1-NP 4,5-oxide、1-NP 9,10-oxide、及びこれらの GSH または Cys 抱合体の変異原性は Ames 法で測定した。1-NP 4,5-oxides は TA98 株 (-)S9 mix で 571 revertants/nmol/plate, TA100 株 (-)S9 で 1000 revertants/nmol/plate の変異原性を示したが、GSH 抱合体は 1-NP 4,5-oxide の 1/150 以下の活性しか示さなかった。Cys抱合体は GSH 抱合体の 10 倍の活性を示した。この変異原活性は β-lyase の阻害剤である aminoxyacetic acid により抑制され高い Cysteine conjugate β-lyase 活性を持つ *Eubacterium limosum* の無細胞抽出液を添加すると促進された。1-NP 9,10-oxide の抱合体でも同様の傾向であった。

ラットに [³H]1-NP 4,5- または 9,10-oxide の GSH 抱合体を経口投与したところ、3 時間の lag の後血中 ³H 濃度が上昇した。また 24 時間で投与量の約 10% が尿中に排泄された。以上より一旦抱合解毒された 1-NP oxides は、腸管内で Cys 抱合体に変換されること、GSH 抱合体の一部は腸管から再吸収されることが明らかになった。

P-79 ニトロアレーンの還元特性と変異原性について

○福原 潔¹、宮田直樹¹、松井道子²、石館 基²、神谷庄造¹ (国立衛試¹有機化学、²変異遺伝)

ニトロアレーンの変異原性の強さはニトロ基の数、および付加位置によって異なる。我々は、新規に合成した1,6-及び3,6-ジニトロベンツ(a)ピレンが、ジニトロピレンに匹敵する強力な変異原性を有することを明らかにした¹⁾。今回、変異原性の強さとニトロ基の化学的性質との相関を明らかにすることを目的として、ベンツ(a)ピレンの6位にF、Cl、CN等、種々の置換基を導入した1-および3-ニトロベンツ(a)ピレンを合成し、それらの酸化還元特性をジニトロベンツ(a)ピレンと比較検討した。その結果、ニトロ基の還元の上れ易さは、6位置換基のI効果およびR効果により、 $\text{NO}_2 \equiv \text{CN} \gg \text{Cl} > \text{F} > \text{H}$ 誘導体の順になることが示された。さらに、2電子目の還元の上れ易さには、R効果が強く影響していることが明らかになった。この電子的効果と変異原性との相関についても報告する。



1-ニトロ体 3-ニトロ体
X = NO₂, H, F, Cl, CN

1) 日本薬学会第107年会講演要旨集、p.651 (1987)。

P-80 直接変異原物質p-ジアゾキノンによるDNAの修飾

○小島一弘、山田哲史、加藤哲太、菊川清見 (東京薬大)

直接変異原活性をもつジアゾキノン化合物は、フェノール化合物の亜硝酸処理によって生成するが、その変異原発現機構はまだ明らかにされていない。今回、p-ジアゾキノン(p-DQ)とDNAの反応について検討した。

仔牛胸腺DNAをp-DQとpH 7、37°C、48 hr処理して修飾DNAを得た。そのUV吸収スペクトルは、室温では未処理DNAのスペクトルと差が認められなかったが、修飾DNAのT_mは未処理DNAのT_mに比して顕著な低下が認められた。Lambda DNAをp-DQとpH 7、37°Cで24 hr処理したのち、アガロース電気泳動を行なった結果、DNA鎖の切断が認められた。一方、adenosine、deoxyadenosine、guanosine、deoxyguanosine、uridine、cytidineをp-DQとpH 7およびpH 9.5で37°C、24hr反応し、HPLCで分析した結果、adenosine、guanosineおよびdeoxyguanosineに反応成績体のピークAD、GDおよびdGDが認められた。AD、GDおよびdGDの中性およびアルカリ性溶液中での極大吸収波長は、いずれも未処理ヌクレオシドの中性およびアルカリ性溶液中でのそれより長波長側に現われ、これらヌクレオシドの塩基部分で反応していることが分かった。

以上の結果より、p-DQはDNAに作用して、DNA鎖を切断し、またDNA塩基部分とも反応することが示唆された。

P-81 加熱による変異の塩基配列特異性

根岸和雄¹、○原田善史²、厚味巖一²、松本桂子²、別所忠昌²、早津彦哉²

(¹岡山大・遺伝子、²岡山大・薬)

M13mp2ファージに含まれるlacZαとそのプロモーター領域は、200塩基程度のDNAに起きる変異をプレート上のプラークの色で検出できるため、突然変異の塩基配列特異性を調べるのに役立つ。これまでに我々は、N(4)-アミノシチジンによる変異や自然突然変異を分析したが、前者ではトランジション型塩基対置換が塩基配列とは無関係に起き、また、後者ではT、C、AまたはGが4個以上繰り返している部位で多くの変異が観察された。これは、ヌクレオチドアナログによる変異はDNAポリメラーゼが誤った塩基を取り込むことにより引き起こされ、自然突然変異は、ポリメラーゼのスリップにより引き起こされるとすれば良く説明できる。今回この系を用いて加熱による変異を分析したところ、これらとは異なるパターンの変異がみられた。すなわち、M13mp2ファージの変異株87cから二本鎖DNAを調製しこれを70°C 48時間加熱処理した後大腸菌に感染させたところ、最高30%の頻度で変異株が得られた。この変異株のうち、10株の塩基配列を調べたところ、アデニンが4個繰り返した部位での一塩基欠失のみが認められた。これはある条件下では熱による損傷がアデニンの繰り返し部位に特異的に起こったことを示唆している。熱による変異は、一種の自然突然変異と考えられる上、その機構はまだ、はっきりしていないので、この結果は興味深い。

P-82 Alkyl化剤の突然変異誘発へのrecA遺伝子の関与

○寺西利之、布柴達男、西岡 一 (同志社大、生化研)

MNNG、MNUなどのAlkyl化剤は、DNAのguanine塩基のO⁶位をAlkyl化して、GC→ATのtransition型変異を誘発するが、SOS-mutagenesis欠損株(umuC欠損株)でもこの突然変異誘発が検出できることから、Alkyl化剤の突然変異誘発にはSOS反応は必ずしも必要としないと考えられてきた。しかしながら我々は、①recA、umuC、sulAなどのSOS遺伝子とβ-galactosidaseの構造遺伝子との融合遺伝子をもつ大腸菌に対して、MNNG処理を行うと明らかにSOS遺伝子発現が見られること、②recA欠損株では、MNNGの変異原性は殆ど検出できないこと、③各濃度のMNNGで処理した大腸菌のSOS遺伝子(recA遺伝子)発現量とL-Arabinose耐性への前進変異誘発頻度を比較すると、両者には有意な相関関係があることなどを見だし、前回の大会で、「Alkyl化剤の突然変異誘発にもSOS反応に関わる可能性がある」と報告した。そこで今回は、Alkyl化剤の突然変異誘発には、SOS遺伝子群のどの遺伝子が関与するかを検討した結果について報告する。

CM561[lexA(Ind⁻)]に、pBR322にrecA*を組み込んだplasmid pKY102をtransformした。この菌株では、構成的に細胞内に存在するRecA量は、plasmid導入により増大されるが、宿主がlexA変異株のためそれ以上には誘導されない。この菌株のMNNGに対する生存率、突然変異誘発頻度を調べた。その結果、生存率、突然変異誘発頻度ともに著しく上昇した。以上の結果から、Alkyl化剤によるDNA損傷の修復、突然変異誘発は、SOS-mutagenesisとは異なり、RecAは必要とするがUmuCは必要としない機構によることが示唆された。

P-83 mucAB遺伝子の大腸菌・枯草菌およびマウスBALB3T3細胞における発現

○田ノ岡 宏、田中和彦、戸須真理子（国立がんセンター・放射線）

腸内細菌のプラスミド由来mucAB遺伝子は誤りがち修復に関与しており、大腸菌のみならず、哺乳動物に依存しない枯草菌においてもその機能を発現するかどうかは興味深いところである。我々はさきにmucAB遺伝子を含む1982 bp(muc364)をクローニングして、塩基配列を決定し、さらにプロモーター領域(SOS box)を除いたmucAB遺伝子(muc1017)を用意した。muc1017を大腸菌-枯草菌シャトルベクターの枯草菌プラスミドMLSプロモーターにつなぎ、枯草菌に入れたところ、MucAおよびMucB蛋白の生成を認め、さらにアルキル化剤MNNGによる突然変異を増強し同時に生存率をも上昇させる作用を見出した。このときアルキル化剤の処理による17kd MucAの14kdと3kdへの開裂もみられた。つぎにマウスの胸腺リンパ球遺伝子のプロモーターをもつ発現ベクター-m.pEE3.8にmuc1017を挿入し、muc1017/m.pEE3.8を作成して、pRSV-neoとともにリソ酸カルシウム法によってマウスBALB3T3細胞に導入した。G418による選別培養後、G418耐性細胞を分離した。Northern blotで、mucABの発現を確認した細胞のフォージが出現することを見出した。そのフォージの細胞を分離し、ヌードマウスに移植すると造腫瘍性を認めた。Western blotによって、マウス細胞におけるMucA蛋白の生成は確認したが、MucB蛋白の生成は認めなかった。以上のことは、mucAB遺伝子の起源を考える上で興味深い示唆を与えるものである。

P-84 o-vanillin による適応応答の誘導阻害作用

○渡辺 佳津子、太田 敏博、渡辺 三恵、加藤 朋子、白須 泰彦（残留農業研究所）

我々は、o-vanillin (2-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde)が大腸菌におけるMNNGあるいはMNU誘発突然変異に対して増強効果を示すことを見出した[Mutation Res. (1989) in press]。そこで、この増強効果におけるo-vanillinの作用機構を明らかにするために、大腸菌B/rの種々のDNA修復機構欠損株を用いてMNNG誘発突然変異に対する影響を調べた。また、プラスミド *ada'*-lacZ' および *umuC'*-lacZ' を用いてMNNG処理による *ada* および *umuC* 遺伝子の発現に対するo-vanillinの効果も検討した。

uvrA, *umuC*, *recA*, *polA* および *alkB* 変異株において、o-vanillinは野生株と同様にMNNG誘発突然変異に対する増強効果を示した。*alkA*変異株におけるo-vanillinの増強効果はごく弱いものであったが、*alkA umuC* 二重変異株では著しい増強効果が認められた。一方、*ada* および *ada umuC* 変異株では、この増強効果は認められなかった。

また、o-vanillinは *ada* 遺伝子の発現を抑制した。しかし、*umuC* 遺伝子の発現に対する抑制効果はなく、より低濃度のMNNGで発現が認められた。

以上のことから、o-vanillinがアルキル化剤特有の修復機構である適応応答の誘導を阻害し、その結果生じる未修復のO⁶-メチルグアニンによりMNNG誘発突然変異が増強することが示唆された。

P-85 バニリンの構造的染色体異常誘発に対する抑制とその機構

○佐々木 有、今西 久子、太田 敏博、白須 泰彦（残留農業研究所）

微生物における突然変異抑制因子として分離されたバニリンが、構造的染色体異常および突然変異の誘発抑制作用をin vitroおよびin vivoの哺乳動物細胞においても有することを既に報告した。しかし、その抑制機構は不明であった。そこで今回はX線およびUVによる構造的染色体異常の誘発に対するバニリンの抑制作用機構について検討を行った結果について報告する。

チャイニーズハムスター由来の培養細胞にX線またはUVを照射し、1細胞周期に相当する時間バニリン存在下で培養した。その結果、X線、UVによる染色体異常の誘発に対するバニリンの抑制効果が認められた。同調した細胞を用いて検索したところ、X線の染色体異常誘発に対するバニリンの抑制効果はG1およびG2期で認められたが、UVの誘発に対するバニリンの抑制効果はG2期でのみ認められた。X線により誘発されたDNA単鎖切断の修復に対するバニリンの作用をアルカリ溶出法を用いて検索したところ、より多くのDNA単鎖切断がバニリン存在下で減少することが示された。しかし、これらの抑制作用はDNAポリメラーゼβの阻害剤であるddThd存在下では阻害された。以上の結果より、バニリンはDNAポリメラーゼβが何等かの形で関与するDNA鎖修復を修飾することにより、染色体異常誘発抑制効果を示すものであると考察された。

P-86 活性酸素系物質に対する大腸菌の交叉適応応答とその機構

○布柴達男、橋本光正、西岡 一（同志社大、生化研）

致死作用を示さない低濃度(30 μMまたは60 μM)のH₂O₂で、大腸菌WP2を前処理(30分間37°C)し、その後、formaldehyde(FA)でchallenge(高濃度処理)すると、FAの致死作用に対して明瞭な抵抗性を獲得することを見だし、この現象を交叉適応応答(cross adaptive response)と名付けた。同様の現象は、chloroacetaldehyde、glutaraldehyde、glyoxal、methyl glyoxalなど、他のaldehyde化合物に対しても観察された。

交叉適応応答の機構を解明するため、異なるDNA修復能をもつ大腸菌DNA修復変異株のFA感受性に対する、H₂O₂前処理の効果を検討した。その結果、前処理により、WP2uvrA [*uvrA*]とZA12 [*umuC*]は、FAに対する抵抗性を獲得したが、CM561 [*lexA(Ind⁻)*]とZA60 [*recA*]では感受性の変化がみられなかった。これらの結果は、交叉適応応答の機構にSOS反応が関わっていることを示唆している。またpBR322に*recA*⁺を組み込んだplasmid pKY102をtransformしたCM561 [*lexA(Ind⁻)*]を用い、同様の効果を調べた。この菌株では、構造的に存在する細胞内のRecA量は、plasmid導入により増大されるが、宿主が*lexA(Ind⁻)*変異株のため、それ以上には誘導されない。しかしながらこの菌株においても、前処理によるFA抵抗性が獲得されたことから、抵抗性獲得には、RecA以外の遺伝子産物の誘導も必要であることが示唆された。以上の結果から、この交叉適応応答の機構は、複数の遺伝子産物(少なくともRecAを含む)が、低濃度H₂O₂前処理により誘導され、これらがDNA修復やFA分解などに働くことが示唆された。

P-87 活性酸素発生系における染色体異常誘発性 VII. 変異原処理によるmenadione抵抗性細胞の分離

○沢田 稔, 祖父尼俊雄, 石館 基 (国立衛試・変異遺伝)

我々は培養細胞に及ぼす活性酸素の影響, 特に染色体異常誘発性について検討を重ねてきた。前回, チャイニーズ・ハムスター CHL細胞を menadione (2-methyl-1,4-naphthoquinone)で繰り返し処理することにより, 徐々にではあるが menadioneの致死作用並びに染色体異常誘発性に対する抵抗性が増大し, superoxide dismutase (SOD)活性も2倍程度増加していることを報告した。Menadioneによる細胞毒性は, NADPH-cytochrome P-450 reductase などのフラビン酵素によって一電子還元されてセミキノン体となり, それが自動酸化によってキノン体に戻る際に生成するスーパーオキシドラジカルに起因すると考えられている。今回我々は ENUあるいはMNNGで処理したCHL細胞から menadione に対する抵抗性の増大したクローンを取得することを試みた。2x10⁵個の細胞を60mmシャーレに播き menadione 7μg/mlを加えた場合, 無処理細胞群ではシャーレ当たり0.3個のコロニーが出現した。一方, ENU(400μg/ml)あるいはMNNG (2.5μg/ml)処理細胞群ではその出現率は数倍増加した。これらのコロニーを分離し, menadione 抵抗性の増大を再確認したところ, 2-3倍高い数個のコロニーが得られた。これらについて, SOD活性及び NADPH-cytochrome P-450 reductase活性の変化を検討中である。さらに, 分離した変異細胞を用いて活性酸素発生系と染色体異常誘発性との関連について検討する。

P-88 ケルセチンの突然変異発現機構に関する検討

○岡本章良¹, 黒田孝一¹, 円藤吟史², 堀口俊一² (¹大阪市立環境科学研究所, ²大阪市立大学医学部)

ケルセチンの変異原活性はS9mix添加によって高められることが知られている。その原因の一つとして, S9mix中のスーパーオキシドジスムターゼ(SOD)によるケルセチンの酸化(活性酸素による酸化)防止作用が考えられている。一方, ケルセチン・SOD間の相互作用を示唆する実験結果も報告されており, そのことは, より突然変異誘発作用の高いケルセチンの活性形態の生成を示唆するものである。今回, 我々は有機砒素化合物(Asozin, p-Tolylarsonic acid)及びメタロチオネインのケルセチン変異原活性に対する影響を調べた(エイムス試験, UVスペクトル変化)。その結果, 有機砒素化合物はS9mix存在下, ケルセチンの変異原活性をある程度下げることが示唆された。また, S9mix非存在下でメタロチオネインによってケルセチンの変異原活性が増加し, ケルセチンのUVスペクトル変化測定系でメタロチオネインの添加によってケルセチンの酸化指標である384nmの吸光度の減少速度が抑えられた。上記の事から, ケルセチンの変異原活性は酸化防止作用およびSODによる活性化の両作用によって影響を受けることが示唆された。

P-89 コルヒチン耐性マウスの小核頻度に及ぼすカルシウム拮抗薬の影響について

○仁藤 新治, 近藤 靖, 有行 史男, 岡庭 梓 (田辺製薬, 安全研)

コルヒチン抵抗性を指標にして分離した多剤耐性細胞は, カルシウム拮抗薬により制ガン剤などに対する耐性が消失することが知られている。また, カルシウム拮抗薬であるベラパミールは, *in vitro*において変異原物質による遺伝子突然変異(Ames test)および多剤耐性細胞での染色体異常頻度を増加させることが報告されている。これらカルシウム拮抗薬の作用は, 膜変異を起こした細胞で変異原物質のP-glycoproteinへの結合を拮抗的に阻害し, 結果的に変異原物質の細胞外への排出を阻害しているものと考えられている。このようにカルシウム拮抗薬の*in vitro*での作用については明かにされているものの, *in vivo*での作用については明らかにされていない。

今回, BALB/c雄マウスにコルヒチン(20μg/kg)を4週間連続投与し, コルヒチン耐性を獲得させた後, マイトマイシンC(MMC)誘発による小核頻度に及ぼすベラパミールの影響について検討した。

その結果, コルヒチン耐性マウスはMMCに対して弱い交差耐性を示した。さらにベラパミールを併用投与した場合には, MMC誘発による小核頻度を増加させた。このことからカルシウム拮抗薬による変異原活性の増強作用は, *in vitro*だけでなく*in vivo*でも認められることが確認された。

P-90 Erythropoiesisから見た小核試験 (その6) カルシウムと小核誘発能の関係

○鈴木勇司¹, 李 傑¹, 清水英佑¹, 戸田昌平², 永江祐輔³ (¹慈恵医大・公衛, ²BML, ³日本チバガイギー)

我々は, erythropoiesisが亢進すると変異原物質による小核誘発頻度が高くなることを報告してきた。今回は, erythropoietin(EPO)による小核(MPCE)誘発亢進がカルシウムを介していることを明らかにする。

【方法】我々の開発した培養骨髄細胞を用いた*in vitro*小核試験を用いた。骨髄細胞培養液中にカルシウムキレート剤のEGTAを添加し, その後にEPOを加え, 更に20時間後に変異原物質としてmitomycin C(MMC)を加えた。MMC添加30時間目のMPCE誘発頻度を検討した。培養液中カルシウム濃度はOCPC法にて検討した。

【結果】培養液中カルシウムイオン濃度が低いほど, EPOによるMPCE誘発亢進作用が抑制された。

【考察】一般に, 細胞中カルシウム濃度が高くなると細胞増殖が盛んになることが報告されている。赤芽球形成においてもカルシウムの関与が認められている。従って, 培養液中にEGTAを添加すると赤芽球中のカルシウムが低下し, erythropoietinによるerythropoiesisが抑制されると考えられる。その結果, erythropoietinによるMMC誘発MPCE頻度増強作用が低下したものとする。

P-91 Erythropoiesis から見た小核試験 (その 7) Estrogen の小核誘発能に与える影響

○永江祐輔、林敏夫 (日本チバガイギー)
鈴木勇司、清水英佑 (慈恵医大 公衛)

これまでに本学会にて、マウス生体内における Erythropoiesis の変化が小核誘発能に及ぼす影響を報告した。今回は女性ホルモンである 17β -estradiol (Estrogen, EG) の小核誘発能に及ぼす影響を検討したので報告する。

[方法] ICR 系雄マウスに EG の 10、100 および 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を 4 日間連続皮下投与後、最終投与から 30 分後に mitomycin C (MMC) 0.70 mg/kg を腹腔内投与し、その 24 時間後に骨髓細胞を得て常法に従い標本作製した。

[結果] ① EG 単独には小核誘発能は認められなかった。② EG の 10、100 及び 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を 4 日間連続投与することで、MMC による小核誘発は用量依存的に抑制された。③ この時、多染性赤血球/正染性赤血球の比は、対照群 (sesame oil + MMC 群) と比較して上昇の傾向が認められた。

[考察] これまで Erythropoiesis が亢進又は抑制された時、変異原物質による小核誘発能は各々亢進又は抑制される事を報告してきた。今回、雌マウス発情前期の血中 EG 濃度ピーク値 (100 pg/ml 前後) に近い濃度 (10 $\mu\text{g}/\text{kg}$) を雄マウスに前投与することで、EG が erythropoiesis を抑制し、変異原物質の変異原性 (小核誘発能) を抑制することが明らかとなった。

P-92 Benzo(a)pyrene のラットへの微量反復投与による末梢リンパ球での SCE 頻度の蓄積

○白石不二雄¹、彼谷邦光¹、森本兼曩²
(¹国立公害研・環境生理、²阪大医・環境)

喫煙などによる人間集団の末梢リンパ球の姉妹染色分体交換 (SCE) の誘発は、環境中の変異原物質の微量づつではあるが長期間に及ぶ反復投与的な暴露による DNA 傷害の蓄積と考えられる。しかしながら、人間集団でのこのような事象を動物実験で証明した研究は少ない。そこで、環境発癌/変異原物質として代表的な Benzo(a)pyrene (BaP) を用いて、ラットへの微量反復投与による DNA 傷害の蓄積を末梢リンパ球の SCE 頻度の増加を指標にして検討した。

BaP はオリーブオイルに湯煎 (90°C) で溶解して調製し、ラット (Wistar 系、雄) の腹腔内に注射した。予備的検討として BaP の 1 回投与実験で SCE 頻度の有意な増加を示す投与量を調べたところ、4 mg/kg b.w. 以上の投与量では有意な SCE の誘発が観察された。そこで、1 回投与量として 0.4、2、及び 10 mg/kg b.w. の 3 段階を設定して、7 日間隔で 4 回及び 8 回の投与を行い、最終投与後 7 日目の末梢リンパ球を培養して、SCE 分析を試みた。0.4 mg/kg b.w. と 2 mg/kg b.w. の両投与量では、4 回投与群では有意な SCE の誘発は認められなかったが、8 回投与群で投与量に相関した SCE の誘発が認められた。これらの結果は、BaP の微量の反復投与がラットの血液中の G₀ 期のリンパ球に作用して、DNA 傷害の蓄積として、SCE 頻度の増加という形で発現したことを示唆する。

索引・謝辞

人名索引

[A]

- 阿部 賢一 0-1
 阿部 俊一 P-70
 Abu-Zeid Medhat 0-22, 0-23
 明石 牧子 0-18, P-24
 秋山 雅行 P-16
 安藤 正典 0-2
 安藤 信明 P-70, P-71
 安藤 俊夫 0-29
 青木 豊明 P-13
 青沼 志珠 P-33
 有元佐賀恵 受賞講演, 0-17, P-26
 有村 博文 P-70
 有田 泉 0-33
 有行 史男 P-89
 有賀 文彦 P-71
 浅井 紀子 P-50
 朝倉 正登 P-15
 浅倉 真澄 P-58
 浅野 哲秀 P-36, P-71
 麻野間正晴 0-3
 厚味 巖一 P-81
 青儀 巧 P-71
 畔上 二郎 P-74

[B]

- H. Bartsch 0-6
 John R. Battista 0-26
 別所 忠昌 P-81

[C]

- 近澤 和彦 P-45
 Larry D. Claxton P-54

[D]

- Lori A. Dodson 0-26

[E]

- Pirkko Einistö 0-5
 円藤 吟史 P-27, P-38, P-88
 遠藤 治 P-53, P-55, P-57
 江角 浩安 0-19, W-1

[F]

- 藤江喜美子 P-13
 藤川 和男 0-25, 0-31
 藤森 亮 0-33
 福原 潔 P-79
 福井 昭三 P-34
 降旗 千恵 0-6, P-72
 古川 明美 P-37, P-68
 古川 秀之 P-25, P-40
 古川 勇次 0-7

[G]

- 龔 大為 0-23
 後藤 敦 P-15
 後藤 博子 0-16
 後藤 純雄 P-22, P-23, P-52, P-53, P-54, P-57, W-2

[H]

- 蜂谷 紀之 0-14, P-71
 原 巧 P-61, P-68, P-73, P-74

- 原田 善史 P-81
 晴佐 久満 P-71
 長谷川雅俊 0-24
 長谷川隆一 0-34
 橋本 光正 P-86
 服部 千春 P-69
 服部 由美 P-25
 林 和夫 P-28, P-30
 林 真 P-69, P-75

- 林 敏夫 P-91
 早津 彦哉 0-10, 0-17, 0-18, 0-27, P-5, P-10, P-24, P-26, P-32, P-43, P-81, S-2
 早津 聡子 P-5
 東元 稔 P-41
 平本 一幸 0-27
 平山 晃久 P-19, P-34
 廣野 巖 P-40
 広瀬美砂子 P-8, P-33
 久松 由東 P-21
 久岡 祥子 P-6
 菱沼 宏哉 0-7, P-49
 一ツ町晋也 0-31, P-71
 洪 清霖 P-12
 堀口 俊一 P-27, P-38, P-88
 堀川 和美 P-17, P-18, P-56
 堀内 一宏 P-71
 堀谷 尚古 P-68, P-73, P-74
 細野 朗 P-49
 Virginia S. Houk P-54
 法喜ゆう子 0-33
 D. P. H. Hsieh P-9

[I]

- 井口 和彦 P-19
 飯島 肇 P-7
 池上 洋二 0-29
 今井 清 P-74
 今西 久子 P-44, P-85
 稲場 文男 0-7, P-49
 稲井 恒彦 P-35
 井上 裕章 0-25, P-59
 井上 由起 P-50
 石館 基 0-5, 0-11, 0-29, P-62, P-69, P-75, P-79, P-87

石井 忠浩 P-23
石井 裕 0-8
伊東 悟 P-69
糸目 千穂 0-18
岩井 正和 P-70
岩本サカエ P-31

[J]

神野 透人 0-2
實成 文彦 P-15

[K]

蒲谷 京子 P-59
甲斐麻美子 P-17, P-18, P-56
垣添 忠生 P-46
神沼 二真 P-1
神谷 庄造 P-79
金光 真一 0-27
笠原 義典 P-71
片山 敬 P-53
加藤 基恵 P-68, P-71, P-73
加藤 隆一 0-22, 0-23
加藤 武司 0-28
加藤 哲太 0-3, P-80
加藤 朋子 P-44, P-84
加藤 安彦 0-28
河原 隆 P-7
河合 昭宏 P-57
河井 一明 P-25, P-40
河村 正純 P-11
川崎 一也 P-67, P-70
川瀬 雅子 0-29
川田 敏恵 P-70
彼谷 邦光 P-92
菊川 清見 0-3, P-80
木村 博 0-28
木村 美佳 0-7
木村 幸子 P-26

木村 修一 0-7, P-49
木内 武美 0-9, P-41, P-77, P-78
北村 歩 0-18
鬼頭 英明 P-45
小林真理子 P-59
小木曾重文 P-63
小島 一弘 P-80
小島 基義 P-71
駒井三千夫 0-7
米田 和子 P-31
近藤 耕治 P-71
近藤 靖 P-71, P-89
小坂 博 0-21
倉島由紀子 0-19
栗原 敬子 P-1
黒田 孝一 P-27, P-38, P-88
黒川 雄二 0-34
串田 弘美 P-46

[L]

C. Z. Lee P-9
J. Lewtas 特別講演, P-23, P-53
李 傑 P-28, P-29, P-30, P-90
呂 鋒洲 P-12
呂 明芬 P-12

[M]

J. Maki-Paakkanen P-75
真鍋 芳樹 P-15
俣野 景典 P-41
松田 彰 P-32
松田 克子 P-7
松田 英貴 0-2
松田 洋 P-73, P-74
松井 道子 P-79
松本 久男 0-9
松本 桂子 P-81
松元 郷六 P-44

松本 寛 P-16
松岡 厚子 P-62
松島泰次郎 0-6, P-3, P-4, P-58, P-72, W-4
松下 秀鶴 P-20, P-21, P-22, P-23, P-52, P-53, P-54, P-55, P-57, S-3

松下 洋久 P-55
三瀬 敬治 0-15
三井 洋司 P-70
光岡 知足 0-13
三浦 邦彦 0-20
宮前 陽一 P-66
宮本 純之 P-63
宮田 直樹 P-79
水沢 博 0-29
望月 正隆 P-55, P-76
森 直子 P-42
森本 兼曩 0-20, P-92
森田 昌敏 P-20, S-1
森田 健 P-71
諸田 勝保 0-28
村上 和也 0-9
村岡 知子 P-6
村田 昭子 P-47
村田 共治 P-71
村田 元秀 P-22
村山 典恵 0-22

[N]

永井 祐輔 P-90, P-91
長尾美奈子 0-4, P-8, P-9, P-33, P-46, S-4
永瀬 久光 P-45
中島 明雄 P-18
中島 栄一 P-71
中島 克子 P-31
中嶋 圓 P-71
中嶋 泰知 P-15

中嶋 敏秋 P-16
中島 由弥 0-31
中村 稔 0-31
中村 清一 0-20, 0-21, P-48
中根 貞雄 0-30
中野 浩美 P-43
中易 教江 P-33
根岸 和雄 0-27, P-32, P-81
根岸 友恵 0-10, 0-18, P-43
西藤 佳子 P-77, P-78
西垣 哲也 P-34
西岡 一 P-47, P-82, P-86
西富 保 P-71
仁藤 新治 P-89
能美 健彦 0-5, 0-11, 0-26, P-62, W-2

野本 邦子 P-63
野村 大成 0-8, 0-16, 0-25, P-60
野中美智子 P-2
H. Norppa P-75
野崎 亘右 P-58
布柴 達男 P-47, P-82, P-86

[O]

尾花 裕孝 P-48
小田 美光 0-21, P-51
尾川 博昭 0-28
小椋 正造 P-35
小原 淑子 0-18, P-32
小森健太郎 P-71
大室 弘美 P-1
大西 克成 0-9, P-41, P-77, P-78
大西 武雄 P-31
大島 寛史 0-6
太田 敏博 P-44, P-84, P-85
大塚 雅則 P-35
大内田昭信 P-37, P-68, P-71
大脇 美枝 P-64

大山 わか P-65
岡田 真理 P-35
岡田 正喜 0-20
岡本 章良 P-27, P-38, P-88
岡庭 梓 P-89
奥田 晴宏 0-24
小野 勝広 0-29
小野 芳朗 P-11
長田 和実 0-7, P-49
大沢 浩一 0-30
小瀬 洋喜 P-45
小沢 正吾 0-22

[Q]

権 太浩 0-14

[R]

梁 治子 0-25, P-48, P-60

[S]

佐井 君江 0-34
斉藤 千夏 0-7
佐治 文隆 0-8
坂部 美雄 0-3
酒井 正史 0-1
酒井 茂克 P-16
阪本 博 P-10
鮫島 義弘 0-8
笹川 千晶 P-3, P-4
佐々木澄志 0-12, 0-32
佐々木 有 P-42, P-44, P-71, P-85
佐武左知子 P-69
佐藤 英郎 P-7
佐藤 精一 P-71
佐藤 孝彦 P-45
沢田 稔 P-87
澤田 繁樹 P-72
関 敏彦 P-52
関 良子 P-29, P-30

関島 勝 P-70, P-71
関田 寛 0-2
世良 暢之 P-17, P-18, P-56
柴原 俊一 P-60
渋谷 徹 P-61, P-68, P-73, P-74
島田 弘康 P-69, P-71
清水 英佑 P-12, P-28, P-29, P-30, P-67, P-90, P-91
下位香代子 P-42
白石不二雄 P-92
白須 泰彦 P-42, P-44, P-84, P-85
祖父尼俊雄 受賞講演, 0-29, P-62, P-71, P-75, P-87

宗宮 功 P-11
園 明 P-64
曾根 秀子 P-46
H. Sorsa P-75
N. Staiano 0-23
杉村 隆 0-4, 0-19, P-8, P-9, P-33, P-46

杉浦 義紹 0-1
杉山千代美 P-71
杉山 清 P-46
須藤 鎮世 P-70, P-71
鈴木 昭浩 P-64
鈴木 洋 0-30, P-71
鈴木 邦夫 0-13
鈴木 美加 P-46
鈴木 修三 P-71
鈴木 勇司 P-28, P-29, P-30, P-67, P-90, P-91, W-3

鈴木由紀子 P-53
立花 章 0-33
高木 篤也 0-34
高木 敬彦 P-22, P-23
高橋 正宣 P-7

[T]

化学物質名等索引

[A]

2-Acetylaminofluorene P-30, P-71
 Acetyltransferase 0-11
 Actinomycin D P-63
 Adriamycin 0-30
 AF-2 0-20, P-59
 Aflatoxin B₁ 0-1, 0-7, 0-12, P-9, P-60
 Aflatoxin B₂ P-60
 Aflatoxin G₁ 0-7, P-60
 Aflatoxin M₁ P-60
 Airborne particulate P-16
 Alcohol sulfate 0-8
 Alkylbenzenesulfonate 0-9
 Alkyl 化剂 P-82
 Aluminum nitrilotriacetate 0-34
 9-Aminoacridine hydrochloride P-63
 3-Aminobenzamide 0-32
 N⁴-Aminocytidine P-33
 3-Aminodibenzofuran P-20
 2-Amino-3, 8-dimethylimidazo-
 [4, 5-*f*]quinoxaline(MeIQx) P-8
 2-Aminofluorene(2-AF) 0-22
 2-Amino-N⁶-hydroxyadenine P-32
 2-Amino-N⁶-hydroxyadenine P-33
 2-Amino-6-methyldipyrido[1,2-*a*:3',2'-*d*]
 imidazole(Glu-P-1) 0-22
 2-Amino-3-methylimidazo[4,5-*f*]
 quinoline(IQ) 0-3, 0-22
 3-Aminotriazole P-61
 Annatto pigment P-2
 Antimony P-27
 Aphidicolin 0-32
 1-β-D-Arabinofuranosylcytosine 0-30
 Ara-C 0-32
 Aromatic amines 0-11
 Arsenic P-12, P-27

Ascorbic acid P-45
 As compounds P-88
 亜硝酸 P-5, P-41
 Azoxymethane 0-14

[B]

Bamethan P-41
 Beet red P-2
 Benzo[*k*]fluoranthene P-22
 Benzo[*ghi*]perylene P-22
 Benzo[*a*]pyrene 0-7, 0-13, 0-17, P-7,
 P-15, P-16, P-17, P-22
 P-30, P-69, P-92
 Benzo[*a*]pyrene-diol-epoxide 0-17
 Benzo[*a*]pyrene-4,5-epoxide 0-17
 Beryllium P-27
 Bifenox 0-2
 Bithionol P-31
 Bleomycin 0-30
 Blue cotton P-6
 Blue rayon P-10
 Bromodeoxyuridine P-75
 Bromodichloromethane P-13
 Bromoform P-13
t-Butylhydroperoxide P-5
N-Butyl-*N*-(4-hydroxybutyl) nitrosamine
 (BHBN) P-46

[C]

Cacodylic acid P-38
 Calcium P-90
 Capsaicin P-3
 Capsicum annum P-3
 Capsicum frutescens P-3
 Carbazole P-21

高橋 陽子 P-52
 高橋 義一 P-23
 高瀬 千晶 P-25
 高山 京子 P-8, P-9
 武部 啓 0-33
 武田 明治 0-2
 竹森 洋 P-14
 竹内 正紀 P-71
 滝澤 行雄 0-14
 玉川 勝美 P-52
 田村 博信 P-68, P-71
 田邊富士美 0-10
 田邊 麻美 P-40
 田中 和彦 P-83
 田中 憲穂 0-12, 0-32
 田ノ岡 宏 P-83
 巽 紘一 0-33
 寺西 利之 P-82
 戸田 昌平 P-67, P-70, P-90
 常盤 寛 P-17, P-18, P-56
 徳光 崇 P-65
 富永 祐民 P-22
 富田 勲 P-42
 戸須真理子 P-83
 土山 宏高 P-32
 津田 充宥 0-19
 角田 行 P-52
 鶴井 淑江 P-58
 津志本 元 P-60

浦沢 正三 0-15
 牛山 博文 0-4

[V]

U. Vinitketkumnuen P-3

[W]

若林 敬二 0-4, P-8, P-9,
 P-33, P-46
 若田 明裕 P-71
 Graham C. Walker 0-26
 渡部 烈 0-24
 渡部知亜紀 0-30
 渡辺佳津子 P-84
 渡辺 雅彦 0-5, 0-11, P-62
 渡辺 三恵 P-84
 渡辺 徹志 P-19, P-34
 綿矢 有佑 P-32

[Y]

山田 哲史 P-80
 山田 徹 P-63
 山岸 美紀 P-58
 山影 康次 0-32
 山守 英朋 P-45
 山根 和子 P-32
 山代 雅子 0-30
 山添 康 0-22, 0-23
 安原 昭夫 P-20
 安井 一 0-30
 安永 勝昭 P-50
 兪 栄植 P-27, P-38
 吉川 邦衛 0-25, P-50, P-59
 吉武 彬 P-63

[U]

上田 亨 P-32
 植弘 崇嗣 P-20
 上野 芳夫 0-1
 鶴川さと子 P-76
 梅村 隆志 0-34
 梅野 幸彦 P-68
 宇野由利子 P-20

[M]

MC110 0-29

MeIQ 0-3

Menadione P-87

6-Mercaptopurine P-31, P-71

Metallothionein P-88

8-Methoxypsoralen 0-10

Methyl bromide P-58

Methyl chloride P-58

Methylcholanthrene 0-7

3-Methylcholanthrene 0-32, P-30

Methylmethane sulfonate P-35

N-Methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine (MNNG) 0-12, 0-13, 0-21, P-35, P-50, P-82, P-84

N-Methyl-*N*-nitrosoourea 0-13, P-35

Metronidazole P-61

Mitomycin C 0-15, P-44, P-64, P-66 P-67, P-89, P-90, P-91

M 13 mp2 phage P-81

Monascus pigment P-2

Muc AB P-83

[N]

Narcotine P-37

β -Nicotinamide adenine dinucleotide 2Na (β -NADH) P-31

燃焼ガス状成分 P-57

二酸化窒素 P-21

Nitroarenes 0-11, P-55, P-79

1-Nitro-3-acetoxypyrene P-15

1-Nitrobenzo[*a*]pyrene P-79

3-Nitrobenzo[*a*]pyrene P-79

4-Nitrobiphenyl P-19

Nitrocarbazole P-21

3-Nitrodibenzofuran P-20

3-Nitrofluoranthene P-17

2-Nitrofluorene 0-5, P-56

Nitroflurazone P-50

1-Nitropyrene 0-5, P-15, P-16, P-17 P-18, P-19, P-47, P-56 P-77, P-78

1-Nitropyrene-4,5-oxide P-77, P-78

1-Nitropyrene-9,10-oxide P-77, P-78

4-Nitroquinoline-1-oxide(4NQO) 0-1, 0-21, P-64

Nitroreductase 0-11

N-Nitrosodimethylamine 0-12

N-Nitrosomorpholine P-26

N-Nitrosoproline P-25

N-Nitrosothiopropine 0-19

p-Nitorotoluene P-37

Novobiocin 0-32

Norharman 0-4, P-7

NRase 遺伝子 P-62

[O]

OATase 遺伝子 P-62

2-*o*-Octadecylascorbic acid(CV-3611) P-46

Ozone 0-9

オゾン処理生成物 P-11

[P]

Phenacetin P-70

Phenylenediamine P-34

Phosphoric acid P-26

PMSG ベクター P-62

Porphyrins 0-17

Potassium alkanediazotate P-76

Procarbazine P-44

[Q]

Quercetin P-88

[R]

卵油 0-3

rec A 0-26

緑茶カテキン P-44

[S]

Salmonella typhimurium P-57

石油ストーブ燃焼排ガス P-57

石ケン 0-8

食物繊維 P-48

醤油 P-41

Sodium cholate 0-14

Sodium fluoride P-28, P-29

Sodium nitrite P-4

Sodium saccharin P-46

S-9 mixture P-49

Super oxide dismutase P-88

[T]

大気浮遊粉じん P-54, P-55

大気中粒子状物質 P-15

2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin P-14

2,4,2',4'-Tetranitrobiphenyl P-19

Tetranitromethane P-24

Thiabendazole P-37

6-Thioguanine 0-33

Thiopropine 0-19

2-Thiouracil P-31

Tobacco smoke condensate P-42

TPA 阻害剤 P-1

2,4,6-Trinitrobiphenyl P-19

Trp-P-2 0-18, 0-27, 0-28, P-48

Trp-P-2(NHOH) P-43

Tryptamine P-4

DL-Tryptophan P-46

Tyramine P-41

[U]

umu C 0-26

umu D 0-26

umu テスト P-11

尿 (Urine) 0-21

烏龍茶 P-1

UV P-64

[V]

Vanillin P-45, P-85

o-Vanillin P-84

Verapamil P-89

Vinyl chloride P-58

[X]

X 線 P-85

[Y]

ヤシガラ活性炭 P-47

謝 辞

本大会を開催するにあたり下記の企業および団体より多大のご援助を賜りました。
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18会大会組織委員長

松 下 秀 鶴

エーザイ (株)

大塚製薬 (株)

(株) 化学品検査協会

化学品安全センター・日田研究所

キャノン (株)

(株) 協和安全性研究所

協和醸酵工業 (株)

呉羽化学工業 (株)

コニカ (株)

(株) 残留農薬研究所

塩野義製薬 (株) 研究所

昭和農芸化工 (有)

(株) 生物医科学研究所

石油連盟

第一製薬 (株) 中央研究所

大鵬薬品工業 (株)

高砂香料工業 (株) 研究所

武田薬品工業 (株)

田辺製薬 (株)

電気事業連合会

東洋インキ製造 (株) 開発研究所

東洋醸造 (株)

(株) ナック

(株) 日本自動車研究所

日本自動車工業会

日本新薬 (株)

日本バイオアッセイ研究センター

(株) バイオリサーチセンター

(株) ビー・エム・エル

藤沢薬品工業 (株)

富士ゼロックス (株)

保健科学研究所

(株) 三菱化成安全科学研究所

山之内製薬 (株) 開発研究所・安全性研究所

(株) ユニチカ環境技術センター

吉富製薬 (株)

リコーテクノリサーチ (株)

(50音順)

研究用試薬

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 μ 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

性物質を希薄な水溶液中から吸着・回収するのに適しています。

分離回収した物質の変異原性は、エイムス試験法等の変異原性測定法により測定できます。

メーカー略称	商品番号	保存方法	品名	包装	価格(¥)	メーカー商品コード
COP	CB-0200-01 CB-0200-02	☉	ブルーコットン(青綿)	5g 5g×5	5,600 26,000	BC-001 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・分面に威力を発揮します。

《特長》

- ブルーコットンの約3倍(約31 \pm 2 μ mole/g)の銅含有量を示します。
- 青色色素の漏出がほとんどありません。
- Trp-P-1等、多くの変異原性物質を吸着します。

メーカー略称	商品番号	保存方法	品名	包装	価格(¥)	メーカー商品コード
DIW	DW-0000-05 DW-0000-25	☉	BLUE RAYON ブルーレーヨン	5g 5×5g	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

※詳細につきましては、下記までお問い合わせ下さい。

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)

オリエンタルのBioResearch Services

変異原性試験用試薬

S-9 ラット肝 ホモジネート
 RAT LIVER 9,000×g SUPERNATANT FRACTION
 誘導: Phenobarbital, 5, 6-Benzoflavone, i. p.
 検定: 生化学的特性及び生物学的活性の検定値を添付します。

包装単位 標準価格
 S-9 2ML 2ml用×10本 ¥32,000

Cofactor (S-9 Mix 用) 凍乾品

Cofactor— I 包装単位 標準価格
 (微生物を用いる変異原性試験用) 10ml用×10本 ¥15,000

Cofactor— II 包装単位 標準価格
 (染色体異常試験用) 10ml用×10本 ¥20,000

クリメディア[®] AM培地

GMP適合工場で最高の品質の原料を用いて調製されたエームテスト用の最少グルコース寒天培地です。

安全性試験受託

nbr 株式会社 日本バイオリサーチセンター
 岐阜県羽島市福寿町間島6-104

SPFのラット、マウス、ウサギ、モルモットおよびビーグルを用いてGLP準拠の医薬品、農薬、食品および各種化学物質の安全性試験および薬理試験の受託

生化学試薬及び実験動物用飼料も御愛用下さい。

----- カタログ請求及び詳しいお問い合わせは下記にお願いします。 -----



オリエンタル酵母工業株式会社

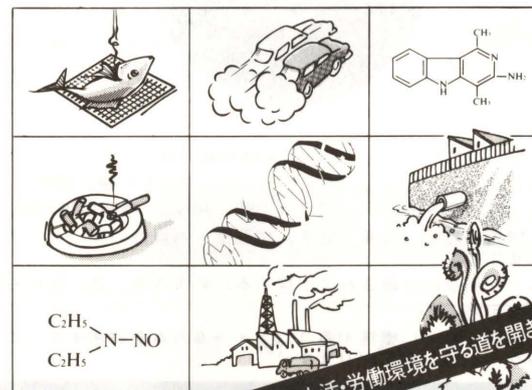
バイオ関連事業部
 〒103 東京都中央区日本橋小伝馬町10番11号
 TEL 03(663)8218

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す。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β-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。

特長

- 単一試験菌株で可
- 高感度
Ames法と同程度
- 簡便
無菌操作など特殊な設備を必要としない
- 多数迅速
マイクロプレート2枚/キット、約6時間
- 代謝活性化
すべてのwellで可
- ヒスチジン含有物質可
- 容易な判読
カラーインデックスの利用

ウムラックキット構成

- ※ テスト用菌株(凍結乾燥)
- ※ 培養液
- ※ S-9 Mix(凍結乾燥)
- ※ 発色基質
- ※ 反応停止液
- ※ 陽性対照物質(2種)
- ※ 溶媒
- ※ 96穴マイクロタイタープレート(2枚)
- ※ その他
カラーインデックス
手袋
使用説明書など

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 B1	+	+	+
AF-2 (Furylfuramide)	+	+	+
Auramine	-	-	+
Benzo (a) pyrene	+	+	+
Benzene	-	-	+
Bleomycin	+	+	+
β-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

大塚製薬株式会社

大塚アッセイ研究所

札幌営業所
 仙台営業所
 東京営業所
 名古屋営業所
 富山営業所

☎011(271)5871(代)
 ☎022(272)4300(代)
 ☎03(342)7871(代)
 ☎052(951)1891(代)
 ☎0764(91)1451(代)

大阪営業所
 徳島営業所
 広島営業所
 福岡営業所

☎06(943)7733(代)
 ☎0886(65)1721(代)
 ☎082(294)9278(代)
 ☎092(271)6689(代)

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

変異原性の簡易測定に、生菌数測定の迅速化に！

スパイラル・プレーター

微生物の連続希釈塗布装置



1枚の寒天平板上に菌液をラセン状に塗布します。寒天平板中央部から外周部に向けて、菌液を連続希釈しながら定量的に塗布します。培養後右上図の様にコロニーが出現しますが、コロニーが疎に存在する外周部のみをカウントするだけで、生菌数が求められます。

〈特長〉

- 1枚の寒天平板で、 $10^2 \sim 10^5/ml$ の菌数測定可能。
- 混釈法に比べ、ピペット、試験管、シャーレ、培地が大幅に節約。
- クロス・コンタミネーションなく、1人で80~90枚数/時間処理可能。
- 特別の技術・熟練を必要とせず、相関性・再現性の高いデータが得られます。
- コロニーが綿長に分離されて出現するため大きさ、色、性状も同時観察が可能。
- 平板に試料を均一に塗布するユニフォームカムを併用することで、アプリケーションが広がります。

変異原性試験用ソフト完成！

レーザー・コロニーカウンター



〈特長〉

- ①透過力の強いレーザー光線を使用し、測定には高い識別力と再現性を実現。
 - ②スパイラル・プレーターとの組合せで、コロニー計測と菌濃度の決定が正確、迅速に可能。
 - ③Ames Test ソフト、スパイラル法用ソフトに加え種々のソフトが開発されました。
 - ④各計測ごとに、培地の透過度を自動補正、さらに記憶回路によってコロニーの重複カウントを防止。
 - ⑤専用データ処理ソフトにより、データの表整理やグラフ化が簡単に行えます。
- SAL-P……エイスム・テスト用ソフト
 - SAL-S……スパイラル・サルモネラ試験用ソフト
 - BEL……生菌数測定用ソフト
 - PET……保存剤効果試験用ソフト
 - KIL……致死曲線用ソフト

輸入総発売元

ガンゼ産業 理化学機器部

〒101 東京都千代田区神田錦町3-17 ☎03-294-4196
〒540 大阪市中央区大手前1-7-31 OMMビル ☎06-944-2623

Colony Analyzer Systems CA-7II

薬学、医学、生化学等の分野における多様な細菌コロニー、組織培養コロニー、バクテリアコロニー、ブランク等、又顕微鏡下における細胞、血球、細胞等の数・面積を豊富なパラメーターの設定により瞬時に計測します。

- 混釈コロニー、淡い小さなコロニーまで検出する高い検出能力
- マクロからマイクロまで広範囲なシステム構成
- 各種粒子の数、面積、直径計測
- 阻止円正式法の力価計算
- 円、正方形、長方形による豊富な測定エリアの設定
- グループ計測機能(平均値etc)
- 上部、下部、暗視野からなる豊富な照明系
- サイズ・コントラストによる分離機能
- コンピューター接続が容易



CA-7II エームステストシステム

試験結果表

別表 2.

試験結果表

検査物質の名称:

代置活性 化系の 有無	数量物質濃度 ($\mu g/\mu l$ ト)	変異変異数(コロニー数/プレート)		
		混釈装置換型		
		TA 100	TA 1535	WP2uvrA
S9Mix	希釈芽胞	149 161 (155)	20 30 (25)	25 27 (26)
	156	164 142 (153)	25 27 (26)	30 19 (25)
	313	160 162 (161)	18 20 (19)	40 35 (38)
	625	130 135 (133)	13 17 (15)	37 34 (36)
(-)	1250	110 120 (115)	12 13 (13)	17 20 (19)
	2500	130 137 (134)	15 17 (16)	15 18 (17)
	5000	0* 0*(0)	0* 0*(0)	20 25 (23)
		()	()	()
S9Mix	希釈芽胞	181 199 (190)	11 15 (13)	31 27 (29)
	156	202 171 (187)	13 11 (12)	30 26 (28)
	313	196 210 (203)	15 16 (16)	30 35 (33)
	625	198 185 (192)	13 15 (14)	()

微生物を用いる変異原性試験

- 計測データの保存
- 保存データを汎用ソフトで処理することが可能
- 生育阻害編集機能
- パラメータファイルにより計測が容易
- 計測データの自動補正
- 濃度別グラフの作成
- 試験結果表の作成
- 高い検出能力により混釈コロニー、淡い小さなコロニーまで高速、正確に測定します。

※ 依頼試料の測定を行っております。お気軽にご相談下さい。

紛らわしい機種名で、旧CA-7の粗悪な模造品が販売されておりますのでご注意ください。

製造発売元

SSS システムサイエンス株式会社

本社・工場 / 〒197 東京都福生市福生1253-16
TEL 0425(52)5956(代表)

SANDOZ

1886年、スイスで生れた総合化学企業サンドは、

世界100数ヶ国へ活動の輪を広げています。

日本では、医薬品・化学薬品・農薬・種子・栄養食品を通じ、

1世紀にわたる蓄積された開発技術・豊かな経験で、

さまざまな分野に貢献しています。

S サンド薬品株式会社
SANDOZ 〒106 東京都港区西麻布4-17-30 TEL 03-797-8000

毒性試験



SHIN NIPPON BIOMEDICAL LABORATORIES, LTD.

当社の特色

創業以来30年余りにわたって培われた技術と経験に基づき、各分野毎の専門スタッフが前臨床試験を実施致します。

国内最大規模を誇る大動物実験施設(ビーグル及びサル)での試験結果は委託者に定評があり、また、諸外国における試験価格に競合するものと考えます。

一般毒性試験 吸入毒性試験 生殖試験 変異原性試験 薬効薬理試験他



株式会社 新日本科学

本社・研究所: 〒891-13 鹿児島県鹿児島郡吉田町宮之浦2438番地
電話0992-94-2600(代表) ファクシミリ0992-94-3619

東京支社: 〒103 東京都中央区日本橋兜町20-5 兜町八千代ビル2階
電話03-663-5028(代表) ファクシミリ03-663-5026



Kaseisorb LC ODS-300-5

アルカリに強く金属不純物のないODS

◇アルカリ移動相が流せる・・・

独特のエンドキャップ法を開発。残存シラノールの影響が無く、アルカリ移動相が使えます。
(pH10、500時間耐久テストにパス)

◇高純度シリカゲル使用・・・

シリカゲルの純度が高く、金属不純物などによる悪影響がありません。

◇塩基性試料の分析に・・・

芳香族アミン、ビタミンB類など、残存シラノールの影響を受け易い試料の分析においても、良好なピークが得られます。

◇低分子試料からたんぱく質まで・・・

細孔径が大きい(300Å)ため、低分子試料からたんぱく質などの分子量数万の試料まで分析が可能です。また、固定相が不活性なため、回収率が向上します。

◇誘導体化分析に・・・

プレカラム法による誘導体化分析などでは、未反応の試料がカラムに吸着し、カラムのライフを縮める事があります。Kaseisorb LC ODS-300-5では、通常未反応の試料は吸着することなく素通り致します。

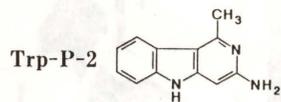
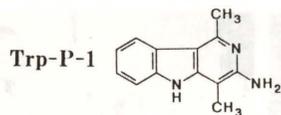
◇超臨界クロマトグラフィー(SFC)に・・・

SFC分析にHPLC用ODSカラムを用いる場合、HPLC以上に残存シラノールの影響によるテーリングが生ずることがあります。

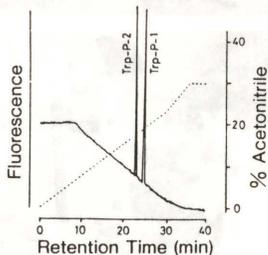
Kaseisorb LC ODS-300-5は、SFC分析においても満足いくピークが得られます。

New Application

Carcinogenic Tryptophan Pyrolysis¹⁾



Column : Kaseisorb LC ODS-300-5
7.5φ×250mm
Mobile phase : A・・・CH₃CN
B・・・10mM H₃PO₄
A 0→30% 35min
linear gradient
Detector : FL λex 266nm
λem 397nm
FLOW Rate : 3.0ml/min.



文献 1) S. Manabe and O. Wada, Mutation Research, 209, 33 (1988)

品名	サイズ	価格(円)	接続タイプ			
			ウォーターズ	島津 (逆フェーラル)	分光	日立
Kaseisorb LC ODS-300-5	4.6φ×150mm	65,000	S1179	S1177	S1178	S1180
	4.6φ×250mm	78,000	S1195	S1193	S1194	S1196
	7.5φ×250mm	130,000	S1270	-	-	-

TGI 東京化成工業株式会社

本社 〒103 東京都中央区日本橋本町3丁目1番13号

クロマト事業部

ご照会 ☎(03)927-0193・FAX(03)927-0226
ご注文 ☎(03)241-0573・FAX(03)246-2094

JAPAN BIOASSAY LABORATORY



受託試験の内容

● 吸入毒性試験・経口等毒性試験

- 急性毒性試験
- 亜急性 (14日間・28日間) 毒性試験
- 亜急性 (90日間) 毒性試験
- 慢性毒性試験
- がん原性試験

● 変異原性試験

- 微生物を用いる復帰変異原試験
- 哺乳動物の培養細胞を用いる染色体異常試験
- 小核試験

中央労働災害防止協会

日本バイオアッセイ研究センター

〒257 神奈川県秦野市平沢2445番地

TEL. 0463-82-3911(代)

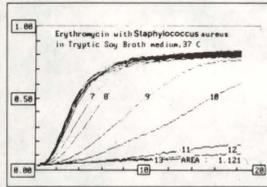
試験についてのお問い合わせは、企画調整部企画課(内線205・207・208)まで

伝統的寒天平板法から微量液体法へ
(End-Point法) (Kinetic法)

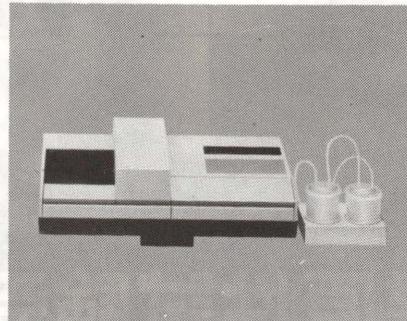
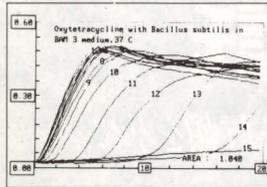
微生物実験における自動化への道を開いた世界初の微生物全自動増殖解析システム

バイオスクリーン[®]C

実例-1 抗生物質 エリスロマイシンの定量

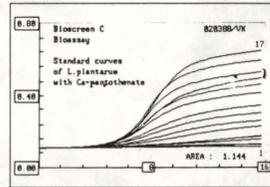


実例-2 抗生物質 オキシテトラサイクリンの定量

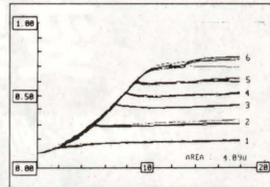


1本の増殖曲線に
秘められた豊富な情報を
自由に解析してみませんか?

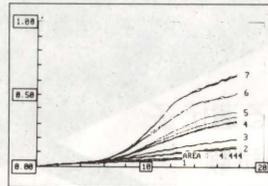
実例-4 ビタミン パントテン酸カルシウムの定量



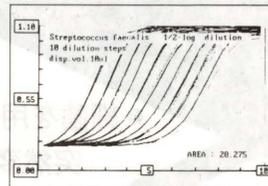
実例-5 アミノ酸 ヒスチジンの定量



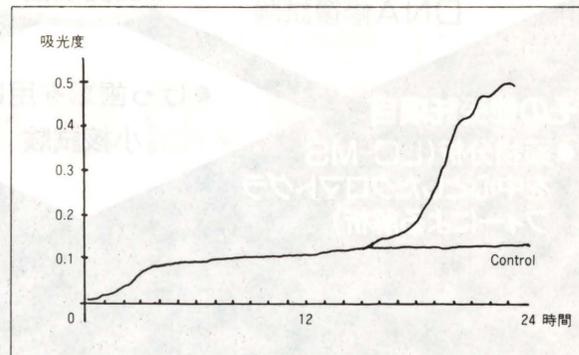
実例-3 ビタミン B12の定量



実例-6 菌液系列希釈培養



実例-7 Salmonella typhimurium TA98の増殖に対する Auramine(フレームシフト変異誘発剤)の影響



変異原性試験等の
研究に!!

- 15cm四方スペースで、大量検体(200検体)同時培養
- 10~60分間隔で経時的に吸光度を自動モニター
- 精密な温度制御(15~55°C、0.1°Cステップ)
- 必要液量(サンプル+培地)は、わずか300~400 μl/キュベット(1検体)
- 豊富なデータ解析及び保存機能

ユニークな研究開発の視点から世界の医療に貢献するラボシステムズ

お問い合わせは
輸入元
ラボシステム・ジャパン株式会社

〒170 東京都豊島区南大塚3-10-10 日本生命南大塚ビル
TEL.03-590-4481(代表)

機器・試薬展示会社一覧

- アイ・エム・アイ(株)
- (株)オリンパス
- ゲンゼ産業(株)
- 三光純薬(株)
- シイベル機械(株)
- システムサイエンス(株)
- (株)島津製作所
- 大日本製薬(株)
- (株)東京エム・アイ商会
- (株)ニコン
- フナコシ薬品(株)
- ラボシステム・ジャパン(株)

(50音順)

ISSN 0910-0865