

早津

環境変異原研究

Environmental
Mutagen
Research
Communications

日本環境変異原学会
(EMS Japan)

第19回大会 (福岡)
抄録集

Vol.12 No.2 1990

日本環境変異原学会

(EMS Japan)

第19回大会

1990・福岡

日本環境変異原学会第19回大会組織委員会

〒818-01 太宰府市向佐野39

福岡県衛生公害センター

TEL. (092) 924-2101

会学局異変慰贈本日

(092) 2113

会大回ei業

092-741-3335

会員会局異変慰贈本日

092-741-3335

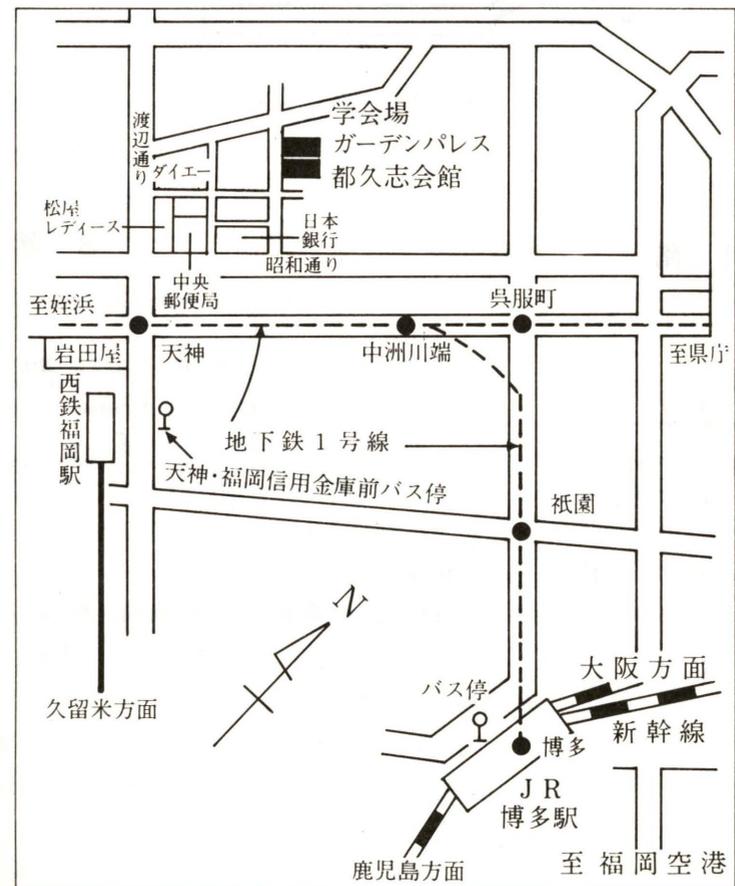
092-713-1112

092-741-3335

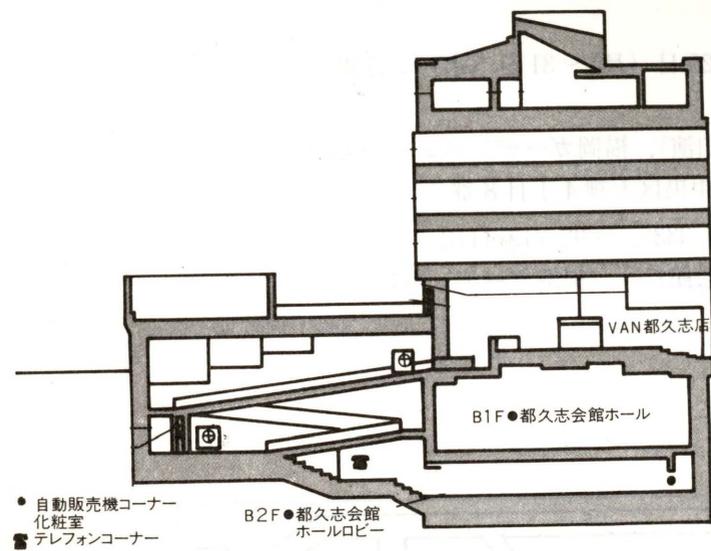
御案内

1. 会 期 1990年10月29日(月)～31日(水)3日間
2. 会 場 都久志会館(口演), 福岡ガーデンパレス(示説)
〒810 福岡市中央区天神4丁目8番
TEL 092-741-3335, 092-713-1112
(都久志会館) (福岡ガーデンパレス)

【会場周辺図】

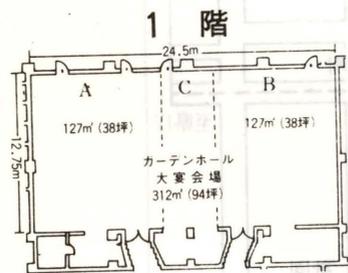


会場案内図



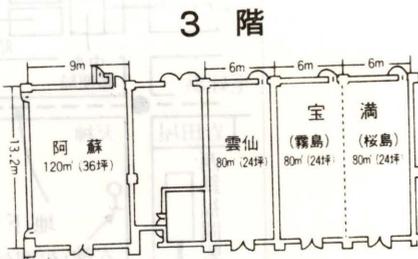
都久志会館ホール：公開講演
特別講演
教育講演
口演
シンポジウム
分科会

A会場：都久志会館



福岡ガーデンパレス (1Fホール)：懇親会
分科会

B会場：福岡ガーデンパレス



阿蘇, 宝満 (霧島, 桜島)：示説
雲仙：機器展示

3. 参加登録

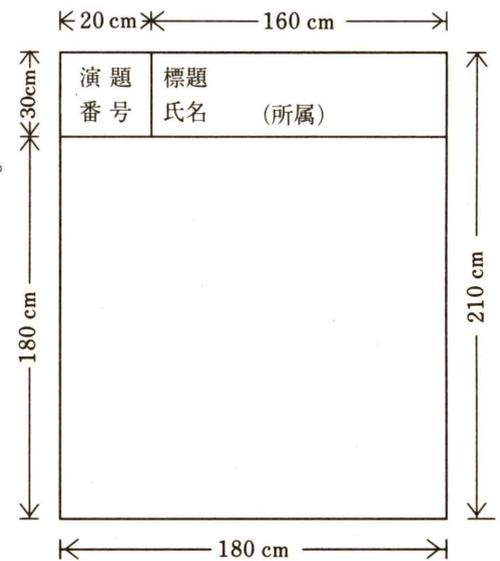
受付は10月29日12:00, 10月30日8:30より都久志会館ロビーにて行ないます。
参加費6,000円, 懇親会費4,000円で, 当日も受け付けています。
会場では必ずネームプレートをご着用下さい。

4. 口演発表

- (1) 一般口演は発表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枚以内をお願い致します。原則としてパナコピーは御遠慮ください。また同じスライドを再度使用される時は2枚ご用意下さい。
- (3) プロジェクターは一台です。
- (4) スライドは発表30分前までにスライド受付で各自所定のホルダーに入れ, 試写して御確認下さい。発表後スライドは受付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210cmです。
- (2) ポスターは図のように割り付けて下さい。このうち, 講演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)は演題番号の右の30cm×160cmのスペースに記入して下さい。残りのスペースは自由に御使用下さい。但し, なるべく目的, 方法, 結果, 考察などに分け, 理解し討論し易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をお願い致します。
- (3) 画鋏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) 発表ポスターは10:00~12:00に所定の場所に各自貼り, 発表終了後速やかに撤去して下さい。



6. 懇親会

10月30日(火)(2日目) 18:20より福岡ガーデンパレス(1Fホール)で行います。

【利用交通機関】

○福岡空港より

西鉄空港連絡バス「渡辺通り1丁目」または「天神」行きに乗車,
「天神・福岡信用金庫前」で下車(約30分), 徒歩約5分。

○博多駅より

地下鉄に乗車, 「天神」駅で下車(約10分, 乗り換えなし),
徒歩約5分。

昼 食

福岡ガーデンパレス2階のレストラン又は会場周辺のレストラン・食堂を
御利用下さい。

分 科 会

1. JEMS・MMS分科会第18回定例会

日 時 : 10月29日(月) 18:00~20:30

場 所 : 都久志会館ホール

参加費 : 無料(どなたでも自由に参加できます)

プログラム

- | | |
|--------------------------------|-------------------------|
| 1. 事務連絡 | MMS分科会事務局 |
| 2. 小核試験標準プロトコルの検討 | 標準プロトコル検討委員会 |
| 3. 第5回小核試験共同研究について | 共同研究世話人 |
| 4. 正常ラットと摘脾ラットにおける末梢血小核の出現について | 青儀 巧(大塚製薬)
林 真(国立衛試) |

連絡先 : 〒257 秦野市落合729-5

(財)食品薬品安全センター

秦野研究所 遺伝学研究室内

澁谷 徹

TEL. 0463-82-4751

2. 第3回 Ames Test 省力化機器開発検討会

日 時 : 10月29日(月) 18:00~20:30

場 所 : 福岡ガーデンパレス・1Fホール

プログラム

- | | |
|-----------------------|---------------|
| 1. Ames Test 省力化機器の開発 | |
| a) その開発経緯と工夫 | 久木崎重成(ライフテック) |
| b) 使用しての感想 | 坂本 豊(武田分析研究所) |

2. Ames test と統計解析

背景データの変動要因と2倍法の評価 浜田知久馬(武田薬品)

3. その他

会の将来問題など

(参加者は人数, 参加者名, 夕食の希望を申し込んで下さい)

世話人: 三菱化成・総合研・安全性研・吉川邦衛

TEL. 045-963-3341 FAX. 045-963-3977

住友化学・安全性研・小木曾重文

TEL. 06-466-5337 FAX. 06-466-5441

(株)武田分析研究所 坂本 豊

TEL. 06-300-6469 FAX. 06-300-6412

事務局: 〒532 大阪市淀川区十三本町2-17-85

3. Ames Test 連絡会「第6回定例会」

日時: 10月31日(水) 18:20~20:30

場所: 都久志会館ホール

————— プログラム —————

1. 微生物変異原性試験の技術的問題点について

松島 泰次郎(東京大学 医科学研究所)

連絡先: Ames Test 連絡会事務局

〒350 埼玉県川越市市場1361-1

(株)ビー・エム・エル安全性試験部内

関島 勝

TEL. 0492-32-3434 (内334)

4. 第8回ショウジョウバエ変異原研究会

日時: 10月29日(月) 18:20~20:30

場所: 福岡ガーデンパレス・1Fホール

————— プログラム —————

1. 翅毛スポットテストにおける遺伝子変換と交叉

綾木 歳一(長崎大・医)

2. サルモネラおよびショウジョウバエにおける金属塩と複素芳香族アミンの複合物の変異原性

尾川 博昭(九工大・物質工学)

3. 情報交換

参加申し込み先: 〒227 横浜市緑区鴨志田町1000

三菱化成工業(株)総合研究所 井上 裕章

TEL. 045-963-3341

FAX. 045-961-6562

参加申し込み締め切り: 10月21日

参加費: 3,000円(弁当代1,500円含む)

学生は1,500円

世話人: 藤川 和男(武田薬品)

TEL. 06-300-6886

FAX. 06-300-6576

梁 治子(阪大・医)

TEL. 06-445-6941

日本環境変異原学会第19回大会

時	日	10月29日 (月)	10月30日 (火)	10月31日 (水)
9:00			8:30 受付 9:00	
			9:00 口演 (O-1~O-16) (都久志会館ホール) (休憩 10:48~11:06)	9:00 口演 (O-17~O-32) (都久志会館ホール) (休憩 10:36~10:54)
12:00		12:00 受付	12:30 12:30 昼食(評議員会)	12:30 12:30 昼食
		13:00 教育講演 (都久志会館ホール)	13:30 13:30 総会 受賞講演 (都久志会館ホール)	13:30 13:30 示説 (P-51~P-100) (福岡ガーデンパレス 3階)
15:00		15:30	15:00 15:00 特別講演 (都久志会館ホール)	15:15 15:25
		16:00 公開講演 (都久志会館ホール)	16:10 16:10 示説 (P-1~P-50) (福岡ガーデンパレス 3階)	17:25 シンポジウム (都久志会館ホール)
18:00		17:30	17:55	
		18:00 分科会	18:20 18:20 懇親会 (福岡ガーデンパレス ホール 1階)	18:20 分科会
21:00		20:30	20:30	20:30

教育講演

都久志会館ホール

10月29日(13:00~15:30)

司会 長尾 美奈子

(国立がんセンター研究所)

環境変異原のヒトへの新しいリスク解析法

1. 序論 (10分)

長尾 美奈子 (国立がんセンター研究所 発がん研究部)

2. 小核試験の最近の動向 (30分)

林 真 (国立衛生試験所 変異遺伝部)

3. ³²P ポストラベル法による DNA 付加体の解析 (30分)

若林 敬二 (国立がんセンター研究所 発がん研究部)

4. ヒトにおける体細胞突然変異の検出 (30分)

秋山 實利, 中村 典, 京泉 誠之,

久代 淳一, 楠 洋一郎, 平井 裕子

(放射線影響研究所 放射線生物学部)

5. 一本鎖 DNA 高次構造多型解析を用いたヒトがんにおける DNA 異常の検索 (30分)

関谷 剛男 (国立がんセンター研究所 腫瘍遺伝子研究部)

6. 総合討論 (20分)

公開講演

都久志会館ホール

10月29日(16:00~17:30)

司会 早津彦哉
(岡山大・薬)

環境発がん要因とがん細胞の遺伝子変化の知識

: がんの予防を達成するために

杉村 隆 博士 (国立がんセンター総長)

一般口演

都久志会館ホール(1階)

10月30日(9:00~12:30)

○は発表者

検出

座長 若林敬二 (国立がんセンター研)

O-1 9:00 In vivo-in vitro ラット肝複製 DNA 合成 (RDS) 試験を用いる non-mutagenic hepatocarcinogens の検出

○宇野芳文, 杉山明男, 高沢博修, 馬場 博, 泰真奈美, 村田妙子,
吉川邦衛 (三菱化成総研・安全性研)

O-2 9:12 1, 2-dimethylhydrazine (DMH) によるラット大腸粘膜細胞の DNA 損傷

(II) UDS 法およびアルカリ溶出法

○権 太浩, 蜂谷紀之, 会田真紀子, 滝澤行雄 (秋田大・医・公衛)

DNA 付加体

座長 大西克成 (徳島大・医)

O-3 9:24 ³²P-ポストラベル法における MeIQx-DNA 付加体の検出効率および付加体の解析

○落合雅子, 広瀬美砂子, 若林敬二, 杉村 隆, 長尾美奈子
(国立がんセンター研・発がん)

O-4 9:36 MeIQx 投与ラットにおける DNA 付加体の生成と修復除去

○広瀬美砂子, 落合雅子, 若林敬二, 杉村 隆,
長尾美奈子 (国立がんセンター研・発がん)

染色体異常

座長 祖父尼 俊雄 (国立衛試)

- O-5 9:48 変異原による染色体異常と成熟分裂乗換えの誘発
○孫田信一 (愛知県コロニー発達障害研)
- O-6 10:00 MeIQx, IQ, Nitro-IQ のラット肝臓における姉妹染色分体交換 (SCE)
誘発作用と染色体異常誘発作用
○澤田繁樹¹, 山中妙子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)
- O-7 10:12 末梢網赤血球を用いる小核試験
○林 真, 鈴木孝昌, 松岡厚子, 祖父尼俊雄
(国立衛生試験所 変異遺伝部)

変異原の生成

座長 田ノ岡 宏 (国立がんセンター研)

- O-8 10:24 ニトロソアミン水溶液に対する近紫外光照射による genotoxicity の生成
○青江卓己¹, 有元佐賀恵¹, 根岸和雄², 早津彦哉¹
(¹岡山大・薬, ²岡山大・遺伝子)
- O-9 10:36 ジアルキルニトロソアミンと IQ 化合物との近紫外光照射による直接変異原性の生成
○有元佐賀恵, 早津彦哉 (岡山大・薬)

休憩 10:48~11:06

突然変異

座長 菊地 康基 (武田薬品工業)

- O-10 11:06 ショウジョウバエにおけるウレタンによる突然変異と薬物代謝能の関連
○梁 治子¹, 野村大成¹, 尾花裕孝², 八木 洋³

(¹阪大・医, ²大阪府公衛研, ³近畿大・理工)

- O-11 11:18 ショウジョウバエにおける金属塩化物の突然変異性
磐田洋明¹, 梁 治子², 加藤安彦¹, ○尾川博昭¹
(¹九工大・工・物質, ²阪大・医・放基)
- O-12 11:30 ショウジョウバエ体細胞試験の評価 (米国 NTP 選定化学物質)
○井上裕章, 蒲谷京子, 小林真理子, 馬場 博, 吉川邦衛
(三菱化成総合研・第2研究部門 安全性研)

座長 澁谷 徹 (食品薬品安全センター)

- O-13 11:42 ヒト精子の受精能におよぼす合成洗剤主成分と石ケンの影響
○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)
- O-14 11:54 マウス化学発癌における投与量率効果 (dose-rate effect) について
野村大成, 本行忠志, 猪原秀典, ○須藤和勇, 福島久雄, 高寺博史,
岩佐 孝, 和田和子 (阪大・医)

座長 清水 英佑 (東京慈恵医大)

- O-15 12:06 有機塩素化合物 MX のラット胃粘膜における遺伝子毒性と細胞増殖作用
○降旗千恵¹, 山下みつ子², 木苗直秀², 松島泰次郎¹
(¹東大・医科研・癌生物, ²静岡県立大・食品栄養科学)
- O-16 12:18 オカダ酸の培養哺乳動物細胞に対する変異原性
○青沼志珠, 中易教江, 牛島俊和, 杉村 隆, 長尾美奈子
(国立がんセンター研・発がん)

総 会
受賞講演

都久志会館ホール

10月30日(13:30~15:00)

司 会 常 盤 寛

(福岡県衛生公害センター)

1. ヒト細胞を用いた環境変異原の検出と作用機構

異 紘一(京都大・医)

2. メチル基置換芳香族炭化水素の代謝活性化

渡部 烈(東京薬大・2衛生化)

特 別 講 演

都久志会館ホール

10月30日 15:00~16:00

司 会 佐 藤 茂 秋

(富山県衛生研究所)

誘導および自然突然変異の抑制機構

関 口 睦 夫 博士(九州大学 医学部)

示 説

福岡ガーデンパレス (3階, 宝満, 阿蘇)

10月30日 16:10~17:55

検 出

- P-1 変異原性試験のコンピュータシステム化
○島田弘康¹, 伊東 悟¹, 佐武左知子¹, 服部千春¹, 大仁田秀和²
(¹第一製薬・中研, ²富士ファコム制御)
- P-2 水道水中の変異原性有機塩素化合物 MX の定量
○木苗直秀¹, 山下みつ子¹, 古郡三千代¹, 杉山千歳¹, 木村俊夫¹,
降旗千恵², 松島泰次郎²
(¹静岡県立大・食品栄養科学, ²東大・医科研・癌生物)
- P-3 水中のフミン酸のオゾン処理と生成物の Ames 試験
○林潤一郎¹, 麻生真次¹, 草壁克己¹, 諸岡成治¹, 常盤 寛², 堀川
和美², 世良暢之² (¹九大・工, ²福岡県衛生公害センター)
- P-4 都市下水処理水中の遺伝毒性物質のオゾン処理による分解に関する研究
○小野芳朗, 宗宮 功, 河村正純 (京都大学 工学部)
- P-5 下水処理放流水中の Blue rayon 吸着変異原物質について
○阪本 博, 早津彦哉 (岡山大・薬)
- P-6 ベンズアントロンと二酸化窒素の光化学反応による変異原性物質の生成
○久松由東 (国立公衆衛生院)
- P-7 大気粒子状物質からのジニトロベンツピレンの検出とその性状について
○世良暢之, 堀川和美, 甲斐麻美子, 村上光一, 常盤 寛
(福岡県衛生公害センター)
- P-8 都市大気中のガス状物質の変異原性
○神谷明男¹, 水谷弘雄¹, 麻野間正晴² (¹名古屋市公研,

²名古屋市衛研)

- P-9 大気中粒子状物質の変異原性 (第4報) — 経年変動と将来予測 —
○真鍋芳樹, 朝倉正登, 後藤 敦, 実成文彦
(香川医科大・人間環境医学)
- P-10 大気中変異原活性の経時変動
— 寒冷地における冬期試料について —
○松本 寛, 中嶋敏秋, 酒井茂克, 秋山雅行
(北海道公害防止研究所)
- P-11 大気浮遊粉じんの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, 遠藤 治¹, 松下秀鶴¹, V. S. Houk², L. D.
Claxton², J. Lewtas² (¹国立公衆衛生院, ²U. S. EPA)
- P-12 YG 株による大気浮遊粉じんの変異原性
○松下秀鶴, 後藤純雄, 田辺 潔, 遠藤 治, 小谷野道子,
杉田和俊 (国立公衆衛生院)
- P-13 ディーゼル粉じん抽出物の変異原性とその活性に及ぼす共存物質の影響
○遠藤 治, 田辺 潔, 後藤純雄, 松下秀鶴
(国立公衆衛生院 地域環境衛生学部)
- P-14 ディーゼル排ガス粒子の変異原性に対する環境要因の影響
山田和正, 布柴達男, ○西岡 一 (同志社大・生化)
- P-15 空気中の変異原性浮遊粒子の肺内沈着量の測定法
○福田裕子¹, 後藤純雄², 遠藤 治², 田辺 潔², 小谷野道子², 片山
敬¹, 松下秀鶴² (¹東京理科大学, ²国立公衆衛生院)
- P-16 個人曝露空気浮遊粒子試料の変異原性 (II)
○小林敬二¹, 後藤純雄², 遠藤 治², 石井忠浩¹, Joellen Lewtas³,
松下秀鶴² (¹東京理科大, ²国立公衆衛生院, ³U. S. EPA)
- P-17 樹木の葉に蓄積されている変異原性多環芳香族化合物量の評価
○鈴木潤三, 桑山京子, 鈴木静夫 (東京理大・薬)
- P-18 調理食品の突然変異原性について [XI] — 鶏肉の加熱による変異原性

- とその抑制について—
- 久岡祥子, 村岡知子 (山陽学園短大・食物栄養)
- P-19 クレアチン熱分解物中の変異原物質
- 糠谷東雄¹, 渡辺浩樹¹, 辻 邦郎¹, 小菅卓夫¹, 若林敬二², 長尾美奈子², 杉村 隆² (¹静岡県立大・薬, ²国立がんセンター研)
- P-20 植物性食品 (タイ国産) の変異原性
- Usanee Vinitketkumnuen^{1,2}, 松島泰次郎²
- (¹Chiang Mai 大・医, ²東大・医科研)
- P-21 大根とその加工品の亜硝酸処理による変異原物質の生成
- 笹川千晶, 松島泰次郎 (東大・医科研)
- P-22 米糠の亜硝酸処理によって生成する変異原性について
- 早津聰子, 明石牧子, 早津彦哉 (岡山大・薬)
- P-23 天然添加物の Ames 試験による変異原性—亜硝酸処理による影響—
- 麻野間正晴¹, 宮部正樹¹, 宮崎仁志¹, 山本勝彦¹, 坂部美雄²
- (¹名古屋市衛研, ²中京女子短大)
- P-24 γ 線照射香辛料の変異原性
- 坂本京子, 森久保桂子, 高鳥浩介, 粟飯原景昭
- (食薬センター・秦野研)
- P-25 市販染毛剤の *S. typhimurium* TA98 に対する変異原性
- 渡辺徹志, 平山晃久, 福井昭三 (京都薬大)
- P-26 ヒト尿中のホルモン及びノルホルモンの検出
- 牛山博文¹, 若林敬二², 杉村 隆², 長尾美奈子²
- (¹都衛研, ²国立がんセンター研)

機 構

- P-27 ニトロ還元酵素遺伝子の導入によるニトロアレーンの高感度変異原検出系
- 小田美光¹, 渡辺雅彦², 能美健彦², 石館 基²
- (¹大阪府立公衛研, ²国立衛試)
- P-28 umu テストにおける除去修復機構の影響

- 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-29 変異原による DNA 損傷と活性酸素 I — H_2O_2 と $\cdot O_2^-$ —
- 小野哲義, 布柴達男, 西岡 一 (同志社大学・生化研)
- P-30 変異原による DNA 損傷と活性酸素 II —セレン化合物—
- 平津圭一郎, 布柴達男, 西岡 一 (同志社大・生化研)
- P-31 変異原による DNA 損傷と活性酸素 III —フォトダイナミック作用—
- 倉岡 功, 川上国彦, 布柴達男, 西岡 一 (同志社大・生化研)
- P-32 Chlorambucil の *Salmonella typhimurium* に対する欠失突然変異誘発能
- 山田雅巳, 能美健彦, 祖父尼俊雄 (国立衛試・変異遺伝)
- P-33 *Salmonella typhimurium* guanine phosphoribosyltransferase 遺伝子のクローニング及びその塩基配列
- 松井道子, 能美健彦, 祖父尼俊雄 (国立衛試・変異遺伝)
- P-34 *Salmonella typhimurium* O⁶-メチルグアニン DNA メチル転移酵素遺伝子のクローニング及びその塩基配列
- 羽倉昌志¹, 能美健彦¹, 森本和滋², 祖父尼俊雄¹
- (国立衛試・¹変異遺伝, ²化学物質情報)
- P-35 変異原物質高感受性を示す培養細胞株の分離, 特性確認—2, 変異原感受性のメカニズムについての検討—
- 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-36 M13 mp2 フェージを用いた太陽光の突然変異誘発作用の研究
- 根岸和雄 (岡山大・遺伝子実験施設)
- P-37 細胞間代謝協同阻害試験における発癌プロモーターの検出
- 岩瀬裕美子, 加藤和子, 武田祐子, 吉川邦衛
- (三菱化成(株)・総合研究所第二研究部門 安全性研究所)
- P-38 ポリ ADP—リボース合成酵素阻害剤ベンズアミドによるジアミノプリン抵抗性突然変異の誘発
- 法喜ゆう子, 藤森 亮, 巽 紘一 (京都大・医)

- P-39 コーヒーの化学発光と一重項酸素の発生
○加藤哲太, 中井 輝, 菊川清見 (東京薬大)
- P-40 MNNG により誘発される CHL 細胞の極微弱発光について
○木村美佳¹, P. Roschger¹, 小林正樹¹, 稲場文男^{1,2}, 木村修一³
(¹新技術事業団, ²東北大・電通研, ³東北大・農・栄養化学)
- P-41 マウス糞便における極微弱発光の日内リズムと老化の影響
○菱沼宏哉¹, 細野 朗², 木村修一², 稲場文男^{1,3}
(¹新技術事業団, ²東北大・農, ³東北大・電通研)
- P-42 日周リズムの変化にともなうマウス肺腫瘍の増殖促進
○中島裕夫, 前田 博, 松浦哲郎, 尾崎清和, 奈良間 功
(摂南大・安全研)
- P-43 ロテノンによる Endoreduplication の誘発とその誘導時期について
○松元郷六, 太田敏博, 白須泰彦 (残留農薬研究所)

代 謝

- P-44 1-Nitropyrene oxides の肝細胞/DNA 修復試験による遺伝毒性
杉江茂幸¹, 奥村 中¹, 森 秀樹¹, 木内武美², 片岡佳子², 大西克成²
(¹岐阜大・医・病理, ²徳島大・医・細菌)
- P-45 環境変異原物質 1-ニトロピレンのマウス肝臓における DNA 付加体
について
○木内武美, 片岡佳子, 大西克成 (徳島大・医)
- P-46 1-nitropyrene oxides のシステイン抱合体の β -lyase による活性化
○片岡佳子, 木内武美, 大西克成 (徳島大・医)
- P-47 Menadione 及び H₂O₂ 耐性 CHL 細胞株を用いた BHA 代謝産物の毒性
発現機構の解析
○鈴木孝昌¹, 松岡厚子¹, 沢田 稔², 林 真¹, 宮田直樹³, 祖父尼
俊雄¹ (¹国立衛試・変異遺伝, ²北大・薬, ³国立衛試・有機化学)
- P-48 ラット肝 S9 による 3,9-ジニトロフルオランテンの代謝
○中川礼子, 常盤 寛 (福岡県衛生公害センター)

- P-49 化学的酸化モデル系による N-ニトロソジアルキルアミンの代謝活性
化と変異原性発現
○大河内江里子, 石村志保, 霜田恵子, 望月正隆 (共立薬大)
- P-50 1,2-dimethylhydrazine (DMH) によるラット大腸粘膜細胞の DNA
損傷 (Ⅲ) 絶食等による影響
○蜂谷紀之, 権 太浩, 滝澤行雄 (秋田大・医)

一般口演

都久志会館ホール (1階)

10月31日 (9:00~12:30)

○は発表者

機構

座長 松島 泰次郎 (東大・医科研)

- O-17 9:00 *Salmonella typhimurium* の変異誘発能と2種類の *umuDC* 遺伝子
○能美健彦¹, 羽倉昌志¹, 中井康晴², 渡辺雅彦¹, 祖父尼俊雄¹
(¹国立衛試・変異遺伝, ²帝人・生医研)

- O-18 9:12 *S. typhimurium* 高感受性株の分子的基础 (その2): NR株, 1,8-DNP
株における変異部位の同定, および活性中心の検索
○渡辺雅彦, 能美健彦, 祖父尼俊雄 (国立衛試・変異遺伝)

座長 黒田 行昭 (国立遺伝研)

- O-19 9:24 MNNG の突然変異誘発における RecA の役割
○布柴達男, 寺西利之, 西岡 一 (同志社大・生化研)
- O-20 9:36 エイムステストに用いられた pKM101 の *mucAB* 遺伝子の有するオ
ンコジーン様活性
○田ノ岡宏, 戸須真理子, 田中和彦, 大津山彰, 篠崎久美子
(国立がんセンター研・放射線)

- O-21 9:48 N-エチル-N-ニトロソ尿素によるマウス始原生殖細胞の突然変異
と細胞死
○澁谷 徹, 松田 洋, 石原尚古, 加藤基恵, 原 巧
(食品薬品安全センター 秦野研究所)

座長 望月 正隆 (共立薬大)

- O-22 10:00 ヘテロサイクリックアミン類の DNA 損傷性と DNA 修復阻害作用~
大腸菌において~
○下位香代子, 川端英樹, 赤岩江里子, 富田 勲 (静岡県立大・薬)

- O-23 10:12 フェノールと亜硝酸との反応により生成する p-および o-diazo-
quinone による DNA の切断と修飾

○小島一弘, 斎藤夏子, 加藤哲太, 菊川清見 (東京薬大)

- O-24 10:24 Non-genotoxic carcinogen (NGC) の発癌機構における酸化的 DNA
傷害

○黒川雄二, 高木篤也, 梅村隆志, 佐井君江, 長谷川隆一

(国立衛試・毒性部)

Thymine glycol; detection is difficult. Uracil is carcinogenic = physical action

休憩 10:36~10:54

代謝

座長 早津彦哉 (岡山大・薬)

- O-25 10:54 ハムスター肝アセチル CoA 依存性アシルアミンアセチル転移酵素
(AT) をコードする cDNA の構造と発現

○小沢正吾, Medhat ABU-ZEID, 永田 清, 宮田昌明, 山添 康,
加藤隆一 (慶応大・医・薬理)

- O-26 11:06 癌原物質 6-Hydroxymethylbenzo[a]pyrene の Hydroxysteroid
Sulfotransferase アイソザイム STa による活性化

○長谷川雅俊, 奥田晴宏, 小倉健一郎, 渡部 烈 (東京薬大・
2 衛生化)

修飾

座長 西岡 一 (同志社大・工)

- O-27 11:18 種々の発癌物質の genotoxicity に対するクロロフィリンの抑制効果
の解析

○根岸友恵, 早津彦哉 (岡山大・薬)

- O-28 11:30 クロロフィリン関連物質の変異原性抑制機構

有元佐賀恵¹, ○稲田直実¹, 頼 春樹², 中野浩美¹, 根岸友恵¹,
早津彦哉¹ (¹岡山大・薬, ²タマ生化学 (株))

- O-29 11:42 5,5-dimethylpyrroline-N-oxide による Dimethylnitrosamine の

変異原抑制について

○古川秀之¹, 河井一明¹, 北原昇吾¹, 江幡淳子²

(¹名城大・薬, ²阪市大・生活科学)

座長 島田弘康 (第一製薬)

- O-30 11:54 ゴボウによる変異原抑制と活性酸素消去について
○江幡淳子¹, 菊地 恵¹, 杉永佳代¹, 北原昇吾², 河合一明², 古川秀之² (¹阪市大・生活科学, ²名城大・薬)
- O-31 12:06 フタル酸エステル類による変異原修飾作用
○佐藤佳代子, 佐藤孝彦, 永瀬久光, 鬼頭英明, 近沢和彦
(岐阜薬科大学 公衆衛生学教室)
- O-32 12:18 ビタミンC併用によるニコチンアミドの抗催奇性ならびに抗腫瘍性の増強効果
○後藤博子¹, 野村大成², 濱田由香¹, 濱田祐子¹, 長谷川千鶴¹
(¹佐保短大・食物, ²阪大・医)

示 説

福岡ガーデンパレス (3階, 宝満, 阿蘇)

10月31日 (13:30~15:15)

試験法

- P-51 食品添加物の Liquid Rec-assay における反応時間の影響
○野中美智子 (九州大・農)
- P-52 アルキル化剤検出能に関する β -ガラクトシダーゼ assay 法と mutation assay 法の相関
○大塚雅則, 岡田真理, 稲井恒彦, 森永範子
(財団法人化学品検査協会 日田研究所)
- P-53 ヒスチジンを含むペプチドの Ames 試験に対する影響
○若田明裕, 山下智子, 玉起美恵子, 大島稔彦
(山之内製薬・安全研)
- P-54 Ames 試験における前培養条件の検討
○萩原利行, 梅澤高志, 内田智子, 渡辺三代子, 平野光一
(三共株式会社 安全性研究所)

検 出

- P-55 MUTAGENICITY OF WOOD SMOKE IN THE AMES TEST.
Asita, A. O.¹, M. Matsui¹, T. Nohmi¹, A. Matsuoka¹, M. Hayashi¹,
T. Sofuni¹, M. Koyano² and H. Matsushita² (¹National Institute of Hygienic Sciences, ²National Institute of Public Health)
- P-56 白金錯体の変異原性
○宇野由利子, 森田昌敏 (国立環境研)
- P-57 ニトロアレーンの還元特性と変異原性について (第2報)
福原 潔¹, ○宮田直樹¹, 武居美奈¹, 松井道子², 松井恵子², 能美健彦², 祖父尼俊雄², 大森清美³, 神谷庄造¹ (国立衛試・¹有機化学, ²変異遺伝, ³神奈川県衛研・薬事毒性)

- P-58 6-アザベンツ [a] ピレノの合成と変異原性について
○福原 潔¹, 宮田直樹¹, 羽倉昌志², 能美健彦², 祖父尼俊雄², 神谷庄造¹ (国立衛試・¹有機化学, ²変異遺伝)
- P-59 p-ニトロフェニルアデニン: 変異原性を持つ核酸塩基新誘導体
松田 彰¹, 上田 亨¹, ○明石牧子², 小原淑子², 角谷俊文², 根岸和雄³, 綿矢有佑, 早津彦哉² (¹北大・薬, ²岡山大・薬, ³岡山大・遺伝子)
- P-60 ショウジョウバエの翅毛スポットテスト系を用いたニトロピレン類の変異原性について
古川秀之, ○河井一明 (名城大・薬)
- P-61 ショウジョウバエに対する近紫外光の genotoxicity とソラレンの影響 (2)-DNA 傷害修復欠損株を用いた翅毛スポットテスト-
○田辺富士美, 根岸友恵, 早津彦哉 (岡山大・薬)
- P-62 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 (続報)
○原 巧, 澁谷 徹 (食薬センター・秦野研)
- P-63 Cyclophosphamide のマウス系統差による胎児小核出現頻度の比較
○石原尚古, 加藤基恵, 原 巧, 澁谷 徹 (食品薬品安全センター 秦野研究所)
- P-64 5-Fluorouracil とその代謝物の変異原性試験
○大内田昭信¹, 原 巧², 古川明美¹, 佐藤幸子¹, 加藤基恵², 石原尚古², 澁谷 徹² (¹大鵬薬品, ²食薬安全センター)
- P-65 粒子状物質のマウス小核誘発能
堀川和美, ○村上光一, 世良暢之, 常盤 寛 (福岡県衛生公害センター)
- P-66 フッ化ナトリウムのマウス骨髓細胞への小核誘発能
○鈴木勇司¹, 清水英佑¹, 李 傑² (¹慈恵医大・公衆衛生, ²山東医大・環境衛生)
- P-67 マウス末梢血を用いる小核試験
小核試験共同研究グループ (JEMS-MMS 分科会)

- 世話人代表 佐々木 有 (残留農薬研究所)
- P-68 2-AAF のマウス末梢血における小核試験-連投効果と系統差-
○浅野哲秀 (日東電工・中央研究所)
- P-69 7, 12-dimethylbenz-[a]anthracene のマウス末梢血液を用いた小核試験
○玉井功一¹, 栗田未来子¹, 大槻穂刈¹, 樋渡恒憲¹, 林 真², 鈴木孝昌², 児玉幸夫², 祖父尼俊雄² (¹保健科学研・変異原性試験室, ²国立衛試・変異遺伝部)
- P-70 Methotrexate と小核誘発能
○笠原義典, 中井康晴, 三浦大志郎, 八木君枝, 蒔田徳太郎 (帝人生医研)
- P-71 ラット末梢血を用いる小核試験法の検討
○青儀 巧¹, 児玉幸夫², 鈴木孝昌², 林 真², 祖父尼俊雄² (¹大塚製薬徳島研究所, ²国立衛生試験所)
- P-72 倍数性細胞の経時的変化
○古川明美, 佐藤幸子, 大内田昭信 (大鵬薬品・安全性研)
- P-73 CHL 細胞を用いた小核試験と構造異常試験との比較
○李 傑¹, 鈴木勇司², 清水英佑² (¹山東医大・環境衛生, ²慈恵医大・公衆衛生)
- P-74 高磁場の白血病誘発物質に及ぼす影響
○清水英佑¹, 鈴木勇司¹, 関 良子¹, 李 傑² (¹慈恵医大・公衆衛生, ²山東医大・環境衛生)
- P-75 Damage to lymphocytes by X-ray and bleomycin measured with the cytokinesis-block micronucleus test
Y. Odagiri¹, M. Fenech², A. A. Morley³ and K. Takemoto¹ (¹Saitama Medical School, ²CSIRO Australia, ³Flinders Medical Centre, Australia)
- P-76 小核部位における DNA 合成時期の検討
○軽部敏昭¹, 川村 堅¹, 小田切陽一¹, 竹本和夫¹, 渡辺 昌² (¹埼玉医大・公衛, ²国立がんセンター研・疫学)

- P-77 Mitomycin C による *in utero* マウス初期胚の SCE 誘発 [II]
 ○三瀬敬治, 浦澤正三 (札幌医科大学 衛生学講座)
- P-78 チャイニーズハムスター由来の培養細胞 (CHL および CHO-K1) における細胞周期の遅延と染色体構造異常誘発に関する研究
 ○山本圭介, 小木曾重文, 小田原恭子, 原 正樹, 吉武 彬
 (住友化学・安全性研)
- P-79 国際協力研究による哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験の比較検討
 ○祖父尼俊雄, 山崎奈緒美, 松岡厚子, 鈴木孝昌, 林 真
 (国立衛試・変異遺伝)
- P-80 染色体異常試験に及ぼす血清の影響
 ○鶴井淑江¹, 浅倉真澄¹, 野口 忠¹, 山岸美紀¹, 井上みゆき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-81 各種培養細胞における酸性 pH の染色体異常誘発性
 ○森田 健, 長岐為一郎, 福田一郎, 奥村和夫
 (日本グラクソ株式会社 東京研究所)
- P-82 エトポシドがヒトリンパ球に誘発する染色体異常と SCE の個人差に関する基礎的研究
 ○大江 武^{1,2}, 徳田光男¹, 中道貴美代¹, 阿部達生¹
 (¹京都府立医大・衛生, ²京都女子大・家政)
- P-83 霊長類細胞株を用いた変異原検出系の検討
 ○岸 邦和¹, 石田貴文² (¹杏林大・保健, ²東大・理)
- P-84 アドリアマイシンのマウス卵母細胞処理による転座ヘテロ個体の誘発
 ○加藤基恵, 石原尚古, 澁谷 徹 (食品薬品安全センター)
- P-85 Resorcinol の染色体異常誘発に関する一考察
 ○石原幸治, 中島和子, 坂本 了
 (日産化学工業 (株) 生物科学研究所)
- P-86 Aporphine 型アルカロイドの *in vitro* 染色体異常誘発性について
 ○只木晋一¹, 野坂富雄¹, 石野正蔵¹, 田中章男¹, 森本 功¹,

- 国友順一² (¹埼玉衛研, ²武庫川女子大・薬)
- P-87 コロニー形成法による雑種細胞 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鳥取大・医・生命科学)
- P-88 Chinese hamster 細胞系の変異原物質に対する感受性の比較
 I. 姉妹染色分体交換
 ○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-89 環境汚染が懸念される農薬の細胞毒性および SCE
 ○黒田孝一¹, 山口之彦¹, 円藤吟史², 阪 育子³
 (¹大阪市環境科学研, ²大阪市大・医, ³大阪薬大)

修 飾

- P-90 MNNG 処理による *ada* 遺伝子発現に対するジチオカーバメート系農薬マンネブの抑制効果
 ○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-91 N-ニトロソジアルキルアミンの代謝活性体の突然変異原性および DNA のアルキル化におよぼす低級脂肪酸の抑制効果
 ○武田 啓¹, 姜 鎬一², 許 南浩², 望月正隆¹
 (¹共立薬大, ²東大・医科研・癌細胞)
- P-92 高分子担体を応用した亜硝酸捕捉剤の開発
 畑中 豊¹, ○豊田佳子¹, 加古ゆかり¹, 諏訪芳秀¹, 糠谷東雄²,
 長尾美奈子³ (¹サントリー基礎研, ²静岡県大・薬,
³国立がんセンター研・発がん)
- P-93 茶タンニン成分の SCE 修飾作用
 ○佐々木有, 松村久子, 太田敏博, 白須泰彦 (残留農薬研)
- P-94 緑茶中のカテキン類による *in vivo* 化学発癌剤誘発染色体異常の抑制
 ○伊藤義明¹, 藤江喜美子² (¹神戸市環境研, ²大阪女子大・

基礎理学科)

- P-95 SOS 反応の誘導を抑制する尿中成分について
○中村清一, 小坂 博, 杉浦 渉 (大阪公衛研)
- P-96 トリハロメタンの SCE 誘発と抑制
○藤江喜美子¹, 青木豊明² (¹大阪女子大, ²大阪府大・工)
- P-97 ニコチン酸アミドのアルキル化剤に対する抗変異原性について
○平山晃久, 渡辺徹志 (京都薬大)
- P-98 金属イオンによる適応応答誘導の阻害機構
○高橋和彦, 今枝孝夫, 川添 豊 (名市大・薬)
- P-99 O⁶-methylguanine により誘発されたマウス胎児毒性・主に催奇形性について
○松田 洋, 畔上二郎, 澁谷 徹 (食薬安全セ・秦野研)
- P-100 *Bifidobacterium* のグリコシダーゼについて
○鈴木邦夫, 白神伸江 (理化研・動物・細胞システム)

シンポジウム

都久志会館ホール

10月31日(15:25~17:25)

環境化学物質の複合作用による変異原性の増強及び抑制

司会: 大西 克成 (徳島大学 医学部)

松島泰次郎 (東京大学 医科学研究所)

- S-1 亜硝酸及び NO_x による変異原の生成とその修飾
津田充宥 (国立がんセンター 研究所)
- S-2 多環芳香族炭化水素投与と NO₂ 暴露との複合作用による変異原の生体内生成
大西克成 (徳島大学 医学部)
- S-3 空気浮遊粒子中の変異原物質とそれらの変異原性に対する共存物質の影響
松下秀鶴 (国立公衆衛生院)
- S-4 重金属化合物と過酸化水素との相互作用による DNA 損傷
川西正祐 (京都大学 医学部)
- S-5 金属の突然変異抑制作用とその機構—セレンを中心に—
西岡 一 (同志社大学 生化研)
- S-6 「複合作用」について考える
早津彦哉 (岡山大学 薬学部)

教育講演
受賞講演
特別講演
シンポジウム

教育講演

1. 序論

(油江 貞子)

長尾 美奈子 (国立がんセンター研究所)

本稿は、がん患者の生活の質を向上させるための介入プログラムの開発と評価に関する研究の序論として、がん患者の生活の質の重要性、介入プログラムの開発と評価の重要性、本研究の目的と意義、研究のデザインと実施方法、結果の期待と今後の展望について述べている。

がん患者の生活の質は、がん患者の健康状態、治療効果、心理状態、社会生活、経済状況など、さまざまな要因によって影響を受ける。生活の質の向上は、がん患者の健康状態の改善、治療効果の向上、心理状態の安定、社会生活の充実、経済状況の改善などに貢献する。

介入プログラムの開発と評価は、がん患者の生活の質を向上させるための重要な手段である。介入プログラムの開発には、がん患者の生活の質の現状を把握し、生活の質を向上させるための介入プログラムの開発が必要である。介入プログラムの評価には、介入プログラムの効果を評価し、介入プログラムの改善が必要である。

本研究の目的は、がん患者の生活の質を向上させるための介入プログラムの開発と評価である。本研究の意義は、がん患者の生活の質を向上させるための介入プログラムの開発と評価の重要性を明らかにすることである。

本研究のデザインは、ランダム化比較試験である。本研究の実施方法は、がん患者を介入群と対照群に割り振り、介入群に介入プログラムを実施し、対照群には介入プログラムを実施しない。介入プログラムの効果を評価するために、生活の質の指標を用いて評価を行う。

本研究の結果は、がん患者の生活の質を向上させるための介入プログラムの開発と評価の重要性を明らかにする。本研究の結果は、がん患者の生活の質を向上させるための介入プログラムの開発と評価の重要性を明らかにする。

本研究の結果は、がん患者の生活の質を向上させるための介入プログラムの開発と評価の重要性を明らかにする。本研究の結果は、がん患者の生活の質を向上させるための介入プログラムの開発と評価の重要性を明らかにする。

教育講演

2. 小核試験の最近の動向

林 真 (国立衛生試験所 変異遺伝部)

マウス骨髄を用いる小核試験は化学物質の染色体異常誘発性を *in vivo* で検討する試験系として広く用いられている。この方法は 1970 年代の初めに Schmid らによって紹介されたもので、その後技術的な改良が加えられて今日ではほぼ確立した試験系となり、化学物質の安全性評価のためのデータの一部を提供している。

最近ではマウス骨髄を用いる通常の小核試験に加え、特殊染色法の導入、観察の機械化、研究対象の拡大などがなされており、さらに新しい研究分野にも小核を観察する方法が適用されるようになってきた。ここでは現在どのようなことがこの分野で試みられているかを紹介する。

- 1) 特殊染色法: 動原体を特異的に染色する方法を適応することにより異数体を誘発する化学物質を検出することが可能になった。
- 2) 末梢血を用いる方法: 化学物質の長期間処理の影響を検出する方法、および骨髄赤血球の代りに末梢血中の幼若な赤血球 (網赤血球) を観察対象細胞とする方法が開発されている。
- 3) 細胞遺伝学的モニタリング: 化学物質の職業的暴露者を対象としたヒトの培養リンパ球を用いる方法や、環境汚染をモニターする方法として魚類の赤血球に出現する小核を検出する方法が試みられている。
- 4) 小核検出の機械化: フローサイトメータおよびイメージアナライザを用いるシステムが考案されている。観察対象としてはマウス骨髄赤血球、マウス末梢赤血球、ヒトの培養リンパ球などが用いられている。

教育講演

3. ^{32}P -ポストラベル法による DNA 付加体の解析

若林 敬二 (国立がんセンター研究所 発がん研究部)

環境中には数多くの発がん物質が存在する。その内、大部分の発がん物質は直接に、又は代謝活性化された後に DNA 付加体を生成する。DNA 付加体の分析には、GC-MS、蛍光検出器を備えた HPLC 及び付加体に対する特異抗体を用いる方法がある。更に、最近 ^{32}P -ポストラベル法が Randerath 博士等により開発された。

^{32}P -ポストラベル法は、DNA を deoxyribonucleoside 3'-monophosphate に分解した後、5' 側に ^{32}P を酵素的に転移し、得られる deoxyribonucleoside 3', 5'-bisphosphate を二次元の TLC で分離し、最後にオートラジオグラフィにより DNA 付加体を検出するものである。この方法は非常に高感度に付加体を検出でき、特に多環性芳香族発がん物質に由来する付加体の解析には有用であり数多くの研究成果が報告されている。我々の研究室では、主に発がん性ヘテロサイクリックアミンを投与した動物に生成する DNA 付加体を ^{32}P -ポストラベル法を用いて解析している。その結果、IQ を投与したサル及びラットのいずれの臓器でも、同じ種類の付加体が生ずること、付加体レベルは両動物でほぼ同じであることを明らかにした。又、ヘテロサイクリックアミンの DNA 付加体量と発がん標的臓器との間には、必ずしも相関性が認められないこと、更には発がん量のわずか 1/4000 量の投与によっても、明らかに DNA 付加体が生成することも見出した。これらの研究より得られた成果をもとに、 ^{32}P -ポストラベル法の有効性及び問題点について述べる。

教育講演

4. ヒトにおける体細胞突然変異の検出

秋山實利, 中村 典, 京泉誠之, 久代淳一, 楠 洋一郎, 平井裕子

(放射線影響研究所 放射線生物学部)

X線, ガンマ線等の電離放射線, 紫外線並びに種々の化学物質に突然変異誘発能力があることはすでに十分明らかにされている。またそれらの変異原により生じる突然変異の特徴も, 細菌, ショウジョウバエ又は哺乳類培養細胞系を用いた研究により多くのことが明らかになっている。しかし, ヒトにおける体細胞突然変異の定量的検出方法は極めて限られており, 最近まで, 利用できる唯一の方法は, 末梢血リンパ球における染色体異常の検出のみであった。染色体異常の検出は特殊な装置を必要としない利点がある反面, 熟練した観察者が必要であるし何よりも観察に多大の手間がかかる欠点がある。また, 多くの化学突然変異原物質は, 主として点突然変異を誘発するので, 染色体異常を指標とすると被曝の過小評価の恐れもあった。したがって, 環境突然変異原物質によるヒトの被曝を監視するため, 採取の容易であるヒト血液細胞を用いて種々の特定遺伝子座位における突然変異を検出できる方法の開発が待望されていた。

最近我々はヒトの特定遺伝子座位における体細胞突然変異を検出するための四つの方法を実用化した。第一は Albertini らの X 線染色体上 HPRT 遺伝子突然変異リンパ球のクローニングによる検出法を改良したものである。二番目は第四染色体上のグリコフォリン A (GPA) 遺伝子座における二つの対立遺伝子 (M 及び N) のうちの一つの発現を欠くか, あるいは組み換え型の異常をもつ赤血球の頻度を Flow-cytometry を用いて測定するものであり, 米国 Lawrence Livermore 研究所の Jensen らの方法を改良したものである。他の二つは, 我々が開発したもので, Flow-cytometry を使用して末梢血 T リンパ球中の T 細胞抗原レセプター遺伝子及び HLA class I 遺伝子における突然変異を検出するものである。今回はこれらのうちの幾つかについて, 我々が実施している検出方法及びその特徴の紹介並びに原爆被爆者や種々の変異原物質に被曝したことが明らかな人々に関する予備的調査の結果について報告する。

教育講演

5. 一本鎖 DNA 高次構造多型解析を用いたヒトがんにおける DNA 異常の検索

関谷 剛男 (国立がんセンター研究所 腫瘍遺伝子研究部)

我々は一本鎖 DNA の塩基配列に依存した高次構造が, 一塩基の置換でも変化し, 非変性ポリアクリルアミドゲル電気泳動における移動度の差として検出できることを見だし, SSCP (single strand conformation polymorphism) 解析と名づけた。DNA ポリメラーゼ反応で DNA 特定領域を増幅する PCR (polymerase chain reaction) 技術と組み合わせた PCR-SSCP 法は, 5' 末端を ^{32}P で標識したオリゴヌクレオチドをプライマーとして PCR で 100~200 塩基対の領域を増幅し, 得られた DNA 断片を一本鎖に変性後, ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行い, オートラジオグラムを作製する。正常 DNA を鋳型とした結果との比較から, 分離された相補鎖の両方あるいは一方に移動度の差を観察することにより塩基置換の存在を知る技術である。1) DNA 断片上の様々な位置での塩基置換の検出が可能, 2) 正常細胞の多数混在するがん組織からの DNA を材料とした場合でも, 移動度の差として検出するため極く弱いシグナルでも確信をもって塩基置換を知ることが可能, 3) 弱いシグナルの場合, 対応する位置のゲル小片から DNA を溶出後 PCR で増幅し, また PCR を利用した塩基配列決定法で塩基置換の確認と同定が可能, 4) 増幅領域の鎖長が異なる様にプライマーを設定することにより, 一箇所以上の領域を一つの反応で検索するが可能などの特長を持つ。数多くの試料を短時間で処理でき, 高感度であることから, 点突然変異等の微細な変化, あるいは, 300 塩基対に一個存在するとされる DNA 多型としての塩基置換の検出に最適であり, がん等における DNA 診断や DNA 多型を遺伝マーカーとする染色体解析に極めて強力な方法と考えられる。ヒトがんにおける ras 遺伝子, Rb, p 53 遺伝子などのがん抑制遺伝子の解析結果を紹介する。

受賞講演

1. ヒト細胞を用いた環境変異原の検出と作用機構

異 紘一 (京都大学 医学部)

変異原が惹起する DNA 損傷に対する修復の機構がヒトと細菌とで異なっていることはそれほど意外ではないが、よく動物実験に供されるマウスやラットなどの齧歯類動物とヒトの間でも、ピリミジン・ダイマーや O⁶ アルキル・グアニンの修復に見られるように、その効率や性質が大きく違っている場合のあることが明らかになった。それゆえ、ヒトに対する環境変異原の危険度を評価するためには、ヒト細胞における突然変異誘発試験の結果を欠くことができないし、突然変異生成の機構をヒト体細胞についてより明らかにすることが緊要であると考えられた。そこで定量的突然変異検出の精度を保証する大量の細胞が比較的容易に準備できる EB ウイルス無限増殖化リンパ芽球様細胞を材料に選び、マイクロウェルプレートを用いる彷徨試験で突然変異頻度を測定した。この方法で作用原の細胞致死作用に感受性が高い遺伝病患者由来細胞について、その突然変異特性を検討した。

色素性乾皮症患者由来細胞は紫外線の細胞致死作用だけでなく、6 チオ・グアニン抵抗性を指標にした突然変異誘発に対しても正常細胞よりはるかに感受性が高い。特に相補性 A 群細胞は C 群細胞と比べても極端に高率の変異が誘発された。A 群では致死 DNA 損傷よりも突然変異生成 DNA 損傷の除去の欠陥がより大きい可能性がある。A 群細胞はヘテロサイクリックアミンの Trp-P-2 (S9 存在下) の変異誘発作用に対しても高感受性であった。

電離放射線やネオカルチノスタチンの細胞致死に感受性が高い末梢血管拡張性運動失調症の患者由来細胞では γ 線の線量当り、正常人由来細胞と同程度の 6 チオ・グアニン抵抗性変異が認められ、 γ 線変異誘発に対する感受性増強は見られなかった。

ファンconi貧血症患者由来細胞では DNA 鎖間架橋剤のジエポキシブタンおよびマイトマイシン C の細胞致死に感受性が高いが、細胞致死がほとんど現れない極低濃度で 6 チオ・グアニン抵抗性変異の誘発が認められた。しかしより高濃度域では逆に低下を示し、特異な用量反応曲線を示した。

このように、リンパ芽球様細胞を材料とした検討の結果、色素性乾皮症およびファンconi貧血症患者由来細胞では特定の作用原による突然変異誘発が高頻度であることが明らかとな

り、正常ヒト細胞にはそれらの変異生成を抑制する機能が備わっていることが示唆された。平板効率が十分に高い A 群色素性乾皮症リンパ芽球様細胞は変異原 2 次スクリーニングにおける検定株としても有用であることを確かめることができた。X 染色体上の HPRT 遺伝子の失活変異を検出する 6 チオ・グアニン抵抗性はヒト細胞でもたいへん便利な検出マーカーであるが、近接遺伝子にまでおよぶ様な大きな欠失による変異は回収されない可能性が考えられ、また常染色体上遺伝子と違って染色体乗り換えや不分離などによる変異も期待できない。末梢血管拡張性運動失調症やファンconi貧血症の患者由来細胞における 6 チオ・グアニン抵抗性変異の一見奇妙な用量反応曲線は、これら遺伝病患者細胞の突然変異特性を理解するために、常染色体上の他の新しい検出マーカーが利用できるようならねばならないことを示している。

受賞講演

2. メチル基置換芳香族炭化水素の代謝活性化

渡部 烈 (東京薬大・2 衛生化)

多環芳香族炭化水素 (以下単にアレーンと略) の中には、微弱な癌原性しか示さないにもかかわらず、メチル基を導入すると、驚く程癌原性が高くなるものが数多く知られている。ベンツ [a] アントラセン (BA) やクリセン (CR) などが有名な例である。例えば、7(12)-モノメチル-BA, 7, 12-ジメチル-BA (DMBA), 5-メチル-CR (5-MCR) などは、いずれも強癌原性物質である。中でも DMBA はベンゾ [a] ピレン (BP) を凌ぐ活性をもち、現在知られているアレーン中で最強の癌原性をもつとされている。5-MCR の癌原性も BP に匹敵する。

これらメチルアレーン類の代謝的活性化の機構は、BP の場合と同様にジオールエポキシドの生成によるとされてきた。しかし、これが正しいとすると、BA や CR は事実とは異なり、強癌原性を示さなければならない。この疑問に対して答を見出すべく演者らの研究はスタートした。まず、古くから発癌研究に汎用されてきた DMBA についてであるが、7-位メチル基が P-450 によって酸化を受けヒドロキシメチル基となったのち、スルホトランスフェラーゼ (ST) によって活性化されることを明らかにした (*Science* 215, 403 (1982))。ついで演者らは、この代謝的活性化機構が強癌原性メチルアレーン類の代表的物質 7-MBA, 12-MBA, 5-MCR などでいずれも成立することを立証した。これらの代謝物ヒドロキシメチルアレーンは、いずれもメチル基置換体同様に強癌原性をもち、対応する硫酸エステルは、いずれも反応性に富む直接作用性の強変異原である。

ヒドロキシメチルアレーン硫酸エステルによる核酸の損傷は、硫酸基が脱離して生成するアリールメチレンカルボニウムイオンが A および G の環外一級アミノ基を修飾する結果起こることが、仔ウシ胸腺 DNA を用いて、演者らによって明らかにされた (*Carcinogenesis* 8, 445 (1987))。最近、Miller 夫妻らのグループ (Wisconsin 大) は、新生児ラットにおける肝染色体 DNA のヒドロキシメチルアレーンによる化学修飾機構が演者らの上記 *in vitro* におけるそれと全く同一であったと報告している。

しかし、メチルおよびヒドロキシメチルアレーン類は、成熟ラットおよびマウスの肝を標的臓器としない。ラット肝においては、ヒドロキシメチルアレーンの硫酸エステル化を触媒

する ST のアイソザイム (演者らにより単離, STa と命名された: *Mol. Pharmacol.* 37, 848 (1990)) の活性が高いが、成熟ラット肝では、生成する活性硫酸エステルは、共存するグルタチオントランスフェラーゼ (GST) によって速やかに捕捉されてしまう。演者らによって見出された活性硫酸エステルを解毒するこの GST アイソザイム (GST Yrs-Yrs) は、既知クラスのアイソザイムとは全く異なる新しいクラスの GST であることが判明した (*J. Biol. Chem.* 265, 11973 (1990))。

メチルおよびヒドロキシメチルアレーン類は皮膚に塗布することによって、皮膚癌を誘発する。ラットおよびマウスの皮膚では、STa 活性は存在するが GST Yrs-Yrs 活性は認められない。これら癌原物質の標的臓器性が STa と GST Yrs-Yrs の両活性の比で、少なくとも部分的には説明できそうである。

ヒドロキシメチルアレーン活性化の鍵酵素 STa は、加藤, 山添ら (慶大・医) の協力を得て、演者らにより最近その一次構造が明らかにされた (*B. B. R. C.* 166, 1494 (1990))。STa は外因性物質を硫酸抱合化する ST アイソザイムの中で、一次構造が明らかになった最初の例である。

特別講演

誘導および自然突然変異の抑制機構

関口 睦夫 (九州大学 医学部)

生物の遺伝情報は DNA 分子の中に保持されているので、DNA を安定に維持することは生物にとってきわめて重要である。そのため生物は正確な DNA 複製機構と DNA に生じた損傷を修復する機構をもっている。細胞の癌化は DNA の変化に基づくことが明らかになっているので、この問題は発癌やその抑制の機構を考える上でも重要である。このような観点から、自然突然変異と誘導突然変異の生起をコントロールする細胞内の機構について考えてみたい。

DNA の複製は基本的に塩基の対合に依拠しているが、塩基対合における誤りの頻度は 10^{-4} 程度とみなされる。それにもかかわらず細胞内での DNA 複製が塩基対当り 10^{-10} 以下という高い精度を維持しているのは、誤った塩基対が生じないようにしている機構、またもし誤った対合が生じた時にそれを複製過程あるいはその直後に修復する装置を細胞がもっているからである。実際そのような機構に関する遺伝子が欠けた場合、その細胞は著しく高い自然突然変異率を示す。それらの遺伝子産物の働きを中心にその分子的機構について考えてみたい。

一方鋳型となる DNA に傷ができた場合には、たとえ複製装置が正常でも突然変異がおこる。それが誘導突然変異であるが、生物はそれを防ぐために DNA の傷を修復する精巧な機構をもっている。アルキル化剤によってできる DNA の傷を修復する酵素系の働きを中心にその機構について考察する。特に最近その cDNA がクローニングされたヒトの O⁶メチルグアニン DNA メチルトランスフェラーゼについて突然変異と発癌の抑制における役割について考える。

シンポジウム

S-1 亜硝酸及び NO_x による変異原の生成とその修飾

津田 充宥 (国立がんセンター研・生化)

亜硝酸塩 (NO₂⁻) や窒素酸化物 (NO_x) は環境中に広く存在し、且つ反応性に富んだ化学種である。NO₂⁻ はニトロソ化合物生成前駆体の一つである。NO_x は強力な環境変異原 nitro-pyrene 類の生成に関与しており、タバコ煙成分でもある。本報では、主として、NO₂⁻ との相互作用による変異原の生成とその抑制に関して、我々の研究を基に論じてみたい。

1. 加熱分解変異原物質の NO₂⁻ による不活性化: 食品の加熱分解により生ずる一連の発がん性 heterocyclic amine 類は、酸性条件下で NO₂⁻ 処理 (2 mM) する事により、その変異原性が不活性化される Trp-P-1 等の非 IQ 型と不活性化されない IQ 型に大別される。この不活性化は NO₂⁻ による脱アミノ化反応によるものであり、数 ppm の NO₂⁻ でも起こる。一方、1 ppm の塩素を含む水道水により、IQ 型、非 IQ 型の別なく不活性化される。

2. 体内ニトロソ化合物 (NOC) の生成とその修飾: NOC の多くは発がん性を示すことから、ヒトがん発生要因の有力な一つと考えられている。ヒト体内で NOC が常時生成していることは、N-nitrosoproline や N-nitrosothiopropine (NTPRO) が尿中に排泄されていることから明らかである。この体内 NOC 生成は、通常、野菜摂取等に由来した硝酸塩が、口腔内細菌によって、NO₂⁻ へと変換されることによる。V.C 摂取は、体内 NOC 生成を抑制する。一方、タバコ煙中の青酸 (Ca. 500 μg/cigarette) は、解毒されてロゲン塩となり唾液腺を介して濃縮され、唾液中濃度は数 mM に達し、胃内での NOC 生成を促進させる。Thiopropine のニトロソ化は proline より数百倍速く、且つ NTPRO は非変異原性である。それ故、thiopropine はヒト体内で、NO₂⁻ を捕捉、体外除去して、他の発がん性 NOC の体内生成を抑制していると考えられる。

3. 最近、L-arginine を基質とする一酸化窒素 (NO) 合成酵素が見出され、NO の生体機能発現における重要な役割が判明してきた。マクロファージの活性化に伴う NO の産生とその NOC 生成への関与に関する知見にも言及する。

シンポジウム

S-2 多環芳香族炭化水素投与と NO₂ 暴露との複合作用による変異原の生体内生成

○大西克成¹, 木内武美¹, 宮西幸一¹, 片岡佳子¹, 加納堯子²
(¹徳島大・医, ²都衛研)

化石燃料の使用増加にともなう、環境中の多環芳香族炭化水素 (PAH) が増加し、また、完全燃焼によって空気中の NO₂ 濃度が増加している。変異原性が無いか弱い PAH が、NO₂ ガス暴露によって、生体内で強変異原性の PAH 誘導体に変換されるかどうかをマウスを使って検討し、ニトロ化 PAH が生じることを明らかにした。

5週齢の ICR マウス 3~5 匹をガラス製のガス暴露装置に入れ、350 ml/min の空気または 20 ppm NO₂ ガスを導入して、24 時間暴露し、400 mg/kg 体重の PAH (pyrene, fluoranthene, fluorene, anthracene または chrysene) を腹腔内に注射し、さらに、24 時間空気または 20 ppm NO₂ に暴露し、後半の 24 時間尿を採取した。尿は除菌後、β-glucuronidase と arylsulfatase とで処理をし、dichloromethane で抽出し、preincubation 法を用いた Ames 法で変異原性を測定した。

PAH を投与したマウスを空気暴露したときの尿の変異原性はほとんど無かったが、NO₂ を暴露したときには、高い変異原性を示した。pyrene 投与-NO₂ 暴露群尿の代謝産物を、HPLC で分析すると、直接変異原性の 1-nitro-3-hydroxypyrene と間接変異原性の 1-nitro-6/8-hydroxypyrene とを検出した。また、各種 PAH 投与-NO₂ 暴露群の尿の変異原性は、ニトロ還元酵素欠損変異株 TA98NR では TA98 株に比し低い値となり、生体内でニトロ化 PAH が生成していることが明らかになった。5 種の PAH を 1/5 量ずつ等量投与群での変異原性は、各種それぞれ投与の場合の約 1.4 倍の変異原性を示した。暴露 NO₂ ガス濃度を 5 または 10 ppm に減少したとき、pyrene 投与量に比例して変異原性が増加した。環境中の NO₂ 濃度は通常 1 ppm 以下であるが、都市ガス燃焼中など、一時的に高濃度の NO₂ に暴露されることもあり、実際に人体中でニトロ化反応が起こり得るものと推察している。

シンポジウム

S-3 空気浮遊粒子中の変異原物質とそれらの変異原性に対する共存物質の影響

松下 秀鶴 (国立公衆衛生院 地域環境衛生学部)

我々は、生れてから死ぬまでの間、環境空気を絶えず吸い続けなければならない。環境空気には、各種化学物質の製造、使用、廃棄等に伴う排出物、不完全燃焼に伴う排出物、および空気中での化学反応生成物など、おびただしい種類にのぼる化学物質が、それぞれ、極微量ずつ含まれ、日常生活を通じてこれらを体内に取り入れている。これらの化学物質の中には、数多くのがん・変異原物質も含まれている。

従来、環境空気中のがん・変異原物質に関する研究は、主に浮遊粒子中のそれについて行われてきており、a) 化学計測法によるがん・変異原性既知物質の検出・定量、b) 化学計測法と変異原性試験法との併用による強い変異原活性物質の検出、および c) 変異原性試験法又は化学計測法による汚染実態の把握を中心になされてきた。浮遊粒子の変異原性に及ぼす構成化学成分の相互作用に関する研究は上記諸研究に較べて極めて少ない。大気浮遊中粒子中には変異原性に対する修飾因子も多種含まれている可能性があるため、修飾因子の解明やその作用機序に関する研究は上記 a)~c) の諸研究成果を総合的に解析、評価する上で重要と考えられる。

そこでここでは、演者らが大気浮遊粒子等に対して行ってきた約 10 年間の成績をもとに、まず、大気中のがん・変異原物質の種類、存在量、東京大気の変異原性パターンの経年変化、変異原性パターンの東京大気とアジア諸国の主都大気との相異などについて短かくふれたのち、浮遊粒子に含まれる中性芳香族画分の変異原性に及ぼす他の画分の影響、浮遊粒子の主要変異原である PAH やニトロアレーンの変異原性に及ぼす共存成分の影響について述べる。

S-4 重金属化合物と過酸化水素との相互作用による DNA 損傷

川西 正祐 (京大・医・公衛)

クロムやニッケルなどの重金属化合物の発がん性は古くから認められているが、その機構は解明されていない。発がん性重金属化合物は単独では単離した DNA を損傷しないが、動物や培養細胞に投与すると DNA 損傷をもたらす。重金属は有機化合物の変異原や発がん物質とは異なり薬物代謝酵素によっては活性化されないことから、非酵素的活性化機構の存在が予想される。我々は Ames テスト陽性の 6 価クロムが過酸化水素の存在下で、OH ラジカルおよび一重項酸素を生成し、DNA 損傷をもたらすことを明らかにした。また、Ames テストで陰性であるニッケル (II)、コバルト (II)、およびニトリロ三酢酸鉄 (III) キレートも過酸化水素の存在下で、金属酸素錯体、一重項酸素、OH ラジカルをそれぞれ生成し、DNA 損傷をもたらすことを示した。Maxam-Gilbert 法を併用した結果、生成する活性種により塩基損傷の特異性が異なることが判明した。過酸化水素は核内でも生成される点で注目すべきプロモーターないしは弱い発がん物質である。従って、発がん性重金属化合物が微量の過酸化水素の存在下で活性種を生成し、発がん過程にとって重要な DNA 損傷をもたらす反応が生体内で起こることが考えられる。

発癌性が認められていない銅 (II) についても検討したところ、過酸化水素の存在下で銅酸素錯体が DNA 損傷をもたらすことが判明した。最近、肝炎肝癌自然発症モデル動物である LEC ラットでは肝臓に異常な銅の蓄積が認められることが報告された。従って、高濃度の銅は発癌に寄与する可能性が考えられる。現在、種々の重金属による DNA 損傷が細胞内でどの程度起こりうるかをパルスフィールドゲル電気泳動法等により検討中である。

以上のような結果に基づいて金属化合物と環境化学物質特に過酸化水素生成促進物質との複合作用による DNA 損傷増強の可能性を考察する。

S-5 金属の突然変異抑制作用とその機構—セレンを中心に—

西岡 一 (同志社大・生化研)

1974 年、我々は金属の変異原性をスクリーニングし、クロムやカドミウムなどの変異原性を報告した。1985 年、金属の抗変異原性を調べ、セレンやヒ素などの化合物が各変異原による誘導突然変異や自然突然変異を抑制することを報告し、以来その機構を研究してきた。これまでの知見からセレンを中心に、金属の突然変異抑制作用とその機構を紹介する。

NaSeO₃ の非致死量を培地に加えておくと、UV, 4NQO, AF-2, MMS および MNNG による大腸菌の誘発突然変異のコロニー数は 10~50% に低下した。UV, 4NQO, AF-2 および MMS の変異原性は SOS-mutagenesis に依存するので、UV による umuDC 遺伝子の発現に対する NaSeO₃ の効果を調べると、その発現は約 50% 抑制され、NaSeO₃ の抗変異原性は、umuDC 遺伝子発現の抑制によることを示唆した。

MNNG 突然変異に対する NaSeO₃ の抑制機構を調べるため、大腸菌の野性株と ada 欠損株を、非致死量の NaSeO₃ で前処理した後、MNNG で処理して致死と突然変異誘発を調べた。前処理により、両株は MNNG に対し、抵抗性を示し、変異誘発が抑制された。しかし MNU ではこの効果は見られなかった。MNNG が GSH と反応して生じる CH₃⁺ が DNA をメチル化すること、Se は GSH peroxidase (GSH. Px) の構成金属であることから、NaSeO₃ で前処理した大腸菌の GSH. Px 活性と GSH 量を測定した。その結果、明瞭な GSH. Px 活性の上昇と、GSH 量の低下が見られた。従って、この突然変異抑制の機構は、NaSeO₃ が GSH. Px の生産を促し、GSH 量が低下し、DNA のメチル化の減少によることが示唆された。同様の結果が、ヒト HeLa S3 細胞でも得られた。

現在、セレンなどの細胞への作用における活性酸素の関与について検討しており、その結果についても紹介する。セレンの生体内における役割や、がん予防効果が知られている。本研究がその機構解明の一助になればと考えている。

シンポジウム

S-6 「複合作用」について考える

早津 彦哉 (岡山大・薬)

変異原物質の生物に対する影響を考えるに当たって、「複合作用」を知ることは大切である。複数の化合物が同時ないしは近接した時間内に働いて、独特の変異原活性を示す例が数多く知られてきている。それらが、現実に生物影響に結びつくかどうかは、大変むずかしい問題であり、我々の持っている科学知識は、未だそれを論じられる段階には至っていないと考える。我々は、どのような化合物の組み合わせが、思いもよらぬ複合作用をもたらすかを見つけていく必要がある。そして、その複合作用メカニズムをできるだけ明らかにして、次への発展を期することが重要と考える。

人間が変異原と接触し、それらを取り込んでいく過程で、「複合作用」として興味を引くのは、変異原あるいはその前駆体と、一般環境因子(例えば、光)、さらには生体や食物の成分、などとの相互作用である。また、変異原同志の作用もあるかもしれない。私達の研究室ではこの観点から、Ames test やショウジョウバエ体細胞変異の系を用いて研究を進め、次のようなことを最近見出している。

1. 変異原性が出現したり、増強されたりするもの。
 - 1.1. ニトロソアミン + 光
 - 1.2. 米飯 + 亜硝酸
 - 1.3. ヘテロサイクリックアミン + ニトロソアミン + 光
2. 変異原性が抑制される場合。
 - 2.1. ヘテロサイクリックアミン, 多環芳香族 + ヘミン, クロロフィル
 - 2.2. 多環化合物 + 脂肪酸
 - 2.3. ニトロソアミン + 光 + SH 化合物

これらの現象につき、そのメカニズムに重点を置いて論じたい。

一般口演

O-1

In vivo-in vitroラット肝複製DNA合成(RDS)試験を用いるnon-mutagenic hepatocarcinogensの検出

○宇野芳文, 杉山明男, 高沢博修, 馬場博, 秦真奈美, 村田妙子, 吉川邦衛(三菱化成総研 安全性研)

【目的】我々が独自に設定した実験条件下において, in vivo-in vitroラット肝複製DNA合成(RDS)試験が, Ames試験で陰性を示すいわゆるnon-mutagenic hepatocarcinogensの検出に有効であるか否かを検討した。

【被験物質】18種類の化学物質を使用した。肝癌原物質---Carbon tetrachloride, Clofibrate, DEHP, Diethylstilbestrol, D,L-Ethionine, 17 α -Ethinylestradiol, Phenobarbital Na, Safrole, Tannic acid, Thioacetamide

他臓器癌原物質---Benzene(皮膚, 口腔), BHA(前胃), Saccharin Na(膀胱)

非癌原物質---L-Ascorbic acid, Benzoin, Caprolactam, 2,6-DAT, D-Mannitol

【方法】実験条件は, 以下のとおりである。

- ①9週齢の雄性F344/DuCrjラットを使用
- ②最大耐量(LD50の1/2量)を単回強制経口投与
- ③投与後15~63時間でRDS誘起肝細胞を観察(コラゲナーゼ灌流法で調製した遊離肝細胞を³H-thymidine添加WE培地で4時間培養後, オートラジオグラフを作製し鏡検)
- ④2000個の肝細胞中1.0%以上のRDS誘起細胞が存在した場合, 陽性と判定

【結果および考察】肝癌原物質のうち, tannic acidを除くすべてが陽性結果を示した。また, 他臓器癌原物質および非癌原物質のうちbenzeneおよびBHAを除くすべてが陰性結果を示した。Cell proliferationを指標としたin vivo-in vitroラット肝RDS試験は, non-mutagenic hepatocarcinogensの検出に極めて有効であった。今後の問題点として以下の事柄が上げられる。

- ①肝以外の標的臓器をもつnon-mutagenic carcinogensへの対策
- ②投与条件の最適化
- ③被験物質の投与用量とRDS誘起の相関性
- ④発癌promoterの特異的指標としてのRDS誘起の検討

O-2

1,2-dimethylhydrazine (DMH)によるラット大腸粘膜細胞のDNA損傷(II) UDS法およびアルカリ溶出法

権 太浩, 蜂谷 紀之, 会田真紀子, 滝澤 行雄(秋田大・医・公衛)

【目的】DMHは大腸癌の動物実験モデルにおいてよく用いられているが, その大腸粘膜細胞におけるDNA損傷性について, in vivo不定期DNA合成(UDS)試験法(昨年度本大会)に引き続き, DNAアルカリ溶出試験法により検討した。

【方法】UDS試験方法は既報と同じである。アルカリ溶出法は蜂谷(トキシコロジフォーラム, 8(3), 1985)に従った。すなわち, DMHを投与したラットの大腸より粘膜組織を切り出し, 緩やかなホモジネーションによって粗核分画を調整した。それをニュークリポアメンブレンフィルター(2 μ m, 25mm ϕ)上でLysisさせ, DNA断片は流速0.05 ml/minのアルカリ溶出液(pH12.1或は12.6)で溶出させた。DNA濃度は微量蛍光分析法によって測定した。

【結果】DMH100mg/kg投与でUDSおよびRDSが著しく誘導されたが, DNAアルカリ溶出法によって用量依存的にDNA鎖切断(SSB)およびアルカリ感受性部位(ALS)の形成が確認された。一方, RDS, UDS, SSB, ALSはいずれも投与後の6時間後に最大となった。また, UDSとALSは投与24時間後にも検出され, さらに投与48時間後にはALSを除いて, いずれもほぼコントロールのレベルに戻った。

【結論】DMHによるラット大腸粘膜細胞DNA損傷性がUDS活性の上昇, およびSSB, ALSの増加として検出された。このうちアルカリ溶出法においてはALSの高感受性が認められた。

O-3 ³²P-ポストラベル法におけるMeIQx-DNA付加体の検出効率および付加体の解析

○落合雅子、広瀬美砂子、若林敬二、杉村隆、長尾美奈子（国立がんセンター・研・発がん）

変異原・がん原物質のDNA付加体生成量の測定法の一つとして、³²P-ポストラベル法が用いられている。感度を上げるためにATP-deficient法やNuclease P₁法がある。芳香族炭化水素であるB(a)PのDNA付加体のNuclease P₁法の検出効率は約70%と報告されている。芳香族アミンのDNA付加体においてグアニンC8位の置換体はNuclease P₁法では検出できないという報告もある。MeIQxをStandard法又はATP-deficient法で解析すると多数のspotが得られる。これらが全て異なる付加体によるのか、また³²P-ポストラベル法の検出効率はどの位か、を明らかにするために以下の実験を行った。

¹⁴C-MeIQxを用いてin vitroでDNA付加体を形成させた。¹⁴C-MeIQxをアセチルCoA存在下PCB誘導したmicrosome及びcytosolで活性化し、calf thymus DNAと反応させた。DNAをRNase処理、proteinase K処理、フェノール・クロロホルム抽出、塩化セシウムの密度勾配遠心により精製し、MeIQx-DNA付加体を得た。¹⁴Cの放射活性から算出したDNA付加体量は69/10⁷ヌクレオチド、³²P-ポストラベル-Nuclease P₁法による場合は16/10⁷ヌクレオチド、検出効率23%であった。Standard法における検出効率は現在、検討中である。また、in vitroでMeIQxをヌクレオチドと反応させて生成した付加体の解析より、Nuclease P₁法で検出される主なものはGとの付加体で、Aとの付加体もあると考えられる。現在確認を行っている。

O-4 MeIQx投与ラットにおけるDNA付加体の生成と修復除去

○広瀬美砂子、落合雅子、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）

変異原・がん原物質である2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx)は種々の加熱食品中に存在し、ヒトは常に低濃度のMeIQxに暴露されている。そこで、各種濃度のMeIQxを投与したラット肝臓におけるDNA付加体の生成と修復除去について検討した。

ラットは2群に分け、I群のラットには0.1, 0.4, 8及び発がん量である400ppmのMeIQxを含む飼料を40週間連続投与した。II群のラットには各種濃度のMeIQxを20週間連続投与し、その後基礎飼料に変更し、更に20週間飼育した。各群のラットは4週間おきに屠殺し、肝臓におけるMeIQx-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。

0.4ppm MeIQxを40週間投与したI群のラット肝臓におけるDNA付加体は投与期間に依り徐々に増加した。付加体レベルは40週で10⁷ヌクレオチド当たり約0.3で4週のそれに比べ約2倍多かった。一方、0.4ppm MeIQxを20週間投与したII群のラットでは、投与中止後8週間で付加体レベルは1/20以下にまで減少した。従って、ラット肝臓中には、MeIQx-DNA付加体を修復除去する機能が存在するものと考えている。400ppm MeIQxを投与した場合には、付加体レベルは12週目まで上昇し、その後減少した。このことは、発がん濃度のMeIQxを投与すると、新たにDNA付加体量を減少させる機構が誘導される事を示唆している。現在、0.1及び8ppm MeIQx投与群の解析を行っている。

O-5 変異原による染色体異常と成熟分裂乗換えの誘発

○孫田信一（愛知県コロニー発達障害研）

変異原による生殖細胞への細胞遺伝学的影響の評価は、これまで染色体異常あるいは姉妹染色分体交換を指標として行われてきたが、in vivoでのこれらの解析は困難な点が多い。

突然変異原は相同染色体間の乗換えに影響を及ぼすことが主にDrosophilaの連鎖遺伝子を用いた研究によって示唆されてきたが、哺乳動物の成熟分裂乗換えへの影響に関してはあまり報告がない。とくに同様の方法による研究を哺乳動物で行うには膨大な数の動物が必要である。

通常、相同染色体間の乗換えの結果を形態学的に明瞭に区別することは困難なことが多い。しかし、相互転座ヘテロ接合体では、その介在部位の乗換えの結果を、第二成熟分裂細胞で不等長な姉妹染色分体をもつマーカー染色体として数えることができる。その部位における乗換え頻度は正常染色体のその頻度と変わらない。

今回は、相互転座ヘテロ接合体にMMCまたはENUを投与し、in vivoで誘発される染色体異常と成熟分裂乗換えについて調査した。その結果、染色体異常と同様に乗換えも投与量に応じて増加することが判明した。この乗換えの結果を識別する方法は、SCEの場合のようにBrdUなどの薬物を付加投与する必要がないことや、乗換えの結果を不等長な染色分体をもつマーカー染色体を指標にして容易に確認できることなど、細胞遺伝学的影響評価の有効な方法になると考えられる。

O-6 MeIQx, IQ, Nitro-IQのラット肝臓における姉妹染色分体交換(SCE)誘発作用と染色体異常誘発作用

○澤田繁樹¹、山中妙子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、染色体異常、小核、SCEを指標にした肝臓原物質のin vivo短期検索法を報告した。このin vivo検索法を用いて、MeIQx, IQ, Nitro-IQのラット肝臓におけるこれらの誘発作用を調べたので報告する。

[方法] 7~8週齢のF344雄ラットに体重1kg当り200mgのMeIQx, 50mgのIQ, 100mgのNitro-IQを1回あるいは5回(1回/日)腹腔内投与した。24時間飼育し、肝実質細胞をカラーゲナーゼ灌流法で単離し、EGF存在下48時間培養後、常法に従い標本作製し、観察を行った。

[結果] SCE(染色体当り)は、1回投与で対照群: 0.57に対し、MeIQx: 0.93, IQ: 0.80, Nitro-IQ: 0.76と有意の誘発を示した。染色体異常は、5回投与で対照群: 0.7%に対し、MeIQx: 14%, IQ: 13%, Nitro-IQ: 16%と有意の誘発を示した。対照群の肝細胞の染色体は2n: 22%, 4n: 75%であったが、投与により、2nが増加し、2n: 64~83%, 4n: 14~34%であった。

[結論] SCE誘発作用および染色体異常誘発作用は、ともにすべての化合物で認められた。先の第49回日本癌学会総会で報告したGlu-P-1, Glu-P-2, Trp-P-1, Trp-P-2と同様の結果が得られた。

O-7

末梢網赤血球を用いる小核試験

○林 真, 鈴木孝昌, 松岡厚子, 祖父尼俊雄
(国立衛生試験所・変異遺伝部)

マウスを用いる小核試験は化学物質の染色体異常誘発性を *in vivo* で検討する試験系として広く用いられている。標的細胞としては骨髓中の幼若な赤血球である多染性赤血球(PCE)が一般的に用いられている。今回著者らは微量の末梢血を用いて小核の誘発頻度を測定する簡便な方法を開発したので紹介する。

- 1) スライドグラスを約70°Cに温め、10 μ lの0.1%アクリジンオレンジ(AO)水溶液をガラス棒でひろげながら乾燥させる。AOを塗布したスライドグラスは室温で保存可能である。
- 2) マウスの尾部より5 μ lの末梢血を凝固阻止剤を加えないで採取し、ただちにAO塗布スライドグラス上におき、24 \times 40mmのカバーグラスをかける。
- 3) 血球の動きが落ちつくまで数時間静置し、600倍程度の蛍光顕微鏡で観察する。

末梢血細胞は塗布されたAOによって超生体染色され、網赤血球(RET)は赤色蛍光を発する網状構造により、小核は黄緑色蛍光を発する小体として客観的に識別できる。マイトマイシンC1mg/kgを腹腔内に単回投与し、小核の出現をPCEとRETで比較した結果、出現頻度に差はないが小核をもつRETはPCEより約12時間出現が遅れることがわかった。

この方法は、同一個体より経時的に小核の誘発を検討することができる点、幼若な赤血球をより客観的に識別できる点などにおいて従来の方法より優れていると考えられる。本法を評価するため、作用機序の異なる多数の化学物質について共同研究が進行している。

O-8

ニトロソアミン水溶液に対する近紫外光照射による genotoxicity の生成

○青江卓己¹, 有元佐賀恵¹, 根岸和雄², 早津彦哉¹ (¹岡山大・薬, ²岡山大・遺伝子)

環状ニトロソアミンである N-nitrosopyrrolidine (NPYR), N-nitrosomorpholine (NMOR), N-nitrosopiperidine (NPIP) は、リン酸緩衝液中で近紫外光 (UVA) 照射を行なうと活性化され直接変異原性を示すようになることがわかっている。しかし最近、NPYR の水溶液に UVA 照射を行なっても直接変異原性を示すようになることを見出した。そこでその現象について検討を行なった。さらにその場合のニトロソアミンの遺伝子損傷作用として M13 フェージの裸の DNA の一本鎖切断についても調べた。

カバー付きのマルチウエルのプラスチックプレートにニトロソアミン (N-nitrosodimethylamine, NPYR, NMOR, NPIP) の水溶液を入れ、UVA 照射を行なった。照射後の水溶液について TA 1535, -S9 で Ames assay を行ない変異原性を調べた。その結果 NPYR 及び NMOR のみ直接変異原性を示すようになりその強さは NPYR > NMOR であった。そしてこの変異原性は thiourea または thioproline により抑制された。また、NPYR は屋外の太陽光及び蛍光灯の光によっても直接変異原性を示すようになった。次に DNA の一本鎖切断活性は調べた全てのニトロソアミンにおいて UVA, 蛍光灯の光のいずれを照射しても観察された。

これらの現象は間接変異原物質であるニトロソアミンの非酵素的活性化及び遺伝子損傷作用として興味深い。

O-9

ジアルキルニトロソアミンと IQ 化合物との近紫外光照射による直接変異原性の生成

○有元佐賀恵, 早津彦哉 (岡山大・薬)

環境に存在する変異原物質は多種類の混ざりとして存在するため、変異原相互で複合的に影響を及ぼしあう可能性がある。

我々は、これまでに環状ジアルキルニトロソアミンがリン酸存在下、近紫外光照射により塩基対置換型の直接変異原物質を生成することを報告した¹⁾。また、Hiroseらにより MeIQをDMSOあるいはアセトン中で太陽光照射するとMeIQのニトロ体が生成するが、水溶液中では生成しないことが報告されている²⁾。

今回我々は、ニトロソジアルキルアミンとIQ化合物 (IQ, MeIQ or MeIQx) との混合水溶液を近紫外光照射したところ、サルモネラ菌 TA98に対して直接変異原性を示すことを見出した。この活性が生じるためにはジアルキルニトロソアミン、IQ化合物およびUVAの3者が必要であった。照射前、あるいはニトロソアミンまたはIQ化合物単独を照射した場合は直接変異原性を示さなかった。また、生成する活性は、ニトロソジアルキルアミン量、IQ化合物量ならびにUVA照射量に対してdose-dependentであった。リン酸は存在しなくとも反応は起きたが、リン酸があると活性は増加した。

従って、何らかの複合的な反応が起きて、直接変異原性をもつ物質が生成していると考えられることが分かった。

1) Arimoto, S. et al. (1989) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **162**, 1140-1146.

2) Hirose, M. et al. (1990) *Carcinogenesis*, **11**, 869-871.

O-10

ショウジョウバエにおけるウレタンによる突然変異と薬物代謝能の関連

○梁治子¹, 野村大成¹, 尾花裕孝², 八木洋³ (¹阪大医, ²大阪府公衛研, ³近畿大理工)

ハエの翅毛スポットテスト用に作成した高薬物代謝活性型 (HikoneR:HR) テスター株は従来の標準型テスター株に比べ、ウレタンによる翅毛スポット誘発率が約10倍高感受性であった (昨年度発表)。この結果を確認するため、HR型翅毛スポットテスター株の対照株として作成した代謝活性正常型 (CantonS:CS) テスター株および代謝活性ヘテロ接合型 (HR/CS) テスター株について、ウレタンによる翅毛スポット誘発の感受性を調べた。結果は、HR型テスター株に比べ、HR/CS型株は同様の、CS型株は約10倍低い、標準型株と同様の変異感受性を示した。なお、薬物代謝活性に依存しない化学変異原MMSによる翅毛スポット誘発感受性は、HR型、CS型および標準型テスター株のいずれにおいても同じ感受性であった。そこで、ウレタンによる代謝活性化が *in vitro* でおこるかどうかを調べるため薬物代謝活性分画として、ハエの胚、幼虫および成虫よりミクロソーム分画S-10を抽出し、アフラトキシンB₁とウレタンによるUmuCテストをS-10存在下で行った。いずれの分画についてもアフラトキシンB₁は陽性であったが、ウレタンは陽性にならなかった。同様の結果がマウス胎児発癌にも見られる。ウレタンの変異誘発機構は依然として謎である。

O-11

ショウジョウバエにおける金属塩化物の突然変異性

磐田洋明¹, 梁治子², 加藤安彦¹, ○尾川博昭¹ (¹九工大・工・物質, ²阪大・医・放基)

古くからある種の金属化合物は、ヒトや動物に発癌性を有することが報告されている。近年、サルモネラ菌や大腸菌などのバクテリアの試験系で数種類の金属化合物の変異原性が証明されている。そこでショウジョウバエのDNA修復試験 (*mei-9^a mei-41^Δ*株) と翅毛スポットテスト (*mwh/flr*株) を用いて、コバルト、クロム、銅、鉄、マンガン、ニッケルおよび亜鉛の塩化物について、その変異原性を検討した。

DNA修復試験では、今回用いた金属塩化物はDNA修復二重欠損株への選択的致死感受性を示さず、DNAへの損傷は認められなかった。一方、翅毛スポットテストにおいては、コバルト、マンガンおよび亜鉛の突然変異性を検出した。中でもコバルトは対照群と比べ約7倍の高い変異頻度を示した。

以上の結果から、突然変異性を示した三種の金属塩化物は、DNAに対して直接損傷を与えず、DNAの酵素系に影響を及ぼして変異を誘起するものと考えられる。

O-12

ショウジョウバエ体細胞試験の評価 (米国NTP選定化学物質)

○井上裕章, 蒲谷京子, 小林真理子, 馬場 博, 吉川邦衛
(三菱化成総合研 第2研究部門安全性研)

〔目的〕 ショウジョウバエ翅毛スポット試験およびDNA修復試験の癌原物質検出力を、細菌や培養細胞を材料とする代表的なイン・ビトロ短期試験法 (STT) のそれと比較し、試験法の相互評価を実施した。

〔材料と方法〕 癌原性の有無が動物実験で実証済みであり、米国NTPの設定したSTTの評価研究 (Tennantら, 1987) に使用された71化学物質を供試した。試験物質の溶液 (懸濁液) でインスタント餌を調製し、3齢のテスター幼虫に摂食させた。陽性結果の判定は、翅毛スポット試験では多翅毛大スポットの出現頻度、DNA修復試験では野生型ハエに対するDNA修復欠損2重変異体 *mei-9 mei-41* の致死感受性を、それぞれ指標とした。

〔結果〕 イン・ビトロ試験の結果 (Tennantら, 1987) と比較すると、今回検討したハエの体細胞試験は、いずれも癌原物質に対する低い sensitivity (翅毛17%, 修復24%) および非癌原物質に対する高い specificity (両試験とも96%) が特徴づけられた。ハエの癌原物質に対する低い sensitivity の原因の1つとして、前癌原物質の代謝活性化能に關与するチトクロムP-450 活性が低いことが考えられる。現在、試験系統の代謝活性化能を強化する目的でHikone-R系統の殺虫剤抵抗性遺伝子 (RI) を導入した系統、および哺乳類のP-450 遺伝子を導入したトランスジェニックハエを使用した体細胞試験を計画中である。

Tennant et al., Science 236: 933-941.

O-13

ヒト精子の受精能におよぼす合成洗剤主成分と石ケンの影響

○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)

シリアン・ハムスターの未受精卵の透明帯をはずすとヒト精子は卵に侵入し、前核形成、染色体形成まで進むことができる。侵入後、精子頭部が膨潤する過程を指標にすれば、ヒト精子の受精能力を比較的簡便に検査することが可能である。この検出系を使って、合成洗剤主成分の一つであるAlcohol sulfate (AS) と石ケンのヒト精子受精能力に対する影響をしらべた。培養によりcapacitationした精子をこれらで1時間処理した後、透明帯除去ハムスター卵に媒精させた。AS 0.01% で処理しても対照と差はなかったが、0.02% 以上では受精能力が完全に阻害された。石ケンでは0.02% では対照と差がなかったが、0.04% では対照の20%、0.06% 以上では完全に阻害された。この結果を前回の本大会で示したマウス受精卵に対する影響と比較すると、ヒト精子はASに対してマウス受精卵より2倍ほど感受性が高い。石ケンの場合、マウス受精卵では0.05% まで影響が全くあらわれなかったが、ヒト精子では0.04% で有意に影響がみられた。マウス受精卵にくらべ、ヒト精子の方が界面活性剤で影響をうけやすいものと考えられる。

O-14

マウス化学発癌における投与量率効果 (dose-rate effect) について

野村大成, 本行忠志, 猪原秀典, ○須藤和勇, 福島久雄, 高寺博史, 岩佐 孝, 和田和子 (阪大医)

従来より、動物を用いた化学発癌研究は、1回大量投与法により行われてきた。しかし、環境に含まれる発癌物質のヒトへの作用は、超微量長期間暴露による。1回大量暴露と微量長期間暴露による生体反応の差異は、放射線の遺伝的影響および発癌について、マウスですでになされておられ、ヒトへのリスク推定の重要な資料となっている。

本研究では、これまで、鎮痛剤の溶媒等として、ヒトに大量使用されたウレタンを化学発癌剤として選び、B6 x A/J F₁ マウス (3ヶ月齢) の皮下にミニポンプを埋め込むことにより、0.434 mg/g・体重のウレタン (ethyl carbamate) を、全量1回皮下注射、0.20 μg/min/g・体重 (約36時間)、0.04 μg/min/g・体重 (約174時間)、0.02 μg/min/g・体重 (約342時間) で皮下投与した。5ヶ月後にマウスを屠殺して調べたところ、肺あたりの腫瘍の数は、それぞれ、3.26 ± 0.57 (95% CI, n = 53), 3.19 ± 0.52 (n = 62), 1.97 ± 0.37 (n = 71), 1.72 ± 0.38 (n = 61) であった。微量長期間投与 (0.04 μg/min/g・体重) により誘発された腫瘍の頻度は、短時間投与の約半に減少しているが、更に投与量率を下げて (0.02 μg/min/g・体重)、肺腫瘍の頻度はそれ以下には減少しない。放射線によるマウス発癌、突然変異の結果とよく一致している。

O-15

有機塩素化合物MXのラット胃粘膜における遺伝子毒性和細胞増殖作用

○降旗千恵¹, 山下みつ子², 木苗直秀², 松島泰次郎¹ (¹東大医科研・癌生物, ²静岡県立大・食品栄養科学)

[目的] 塩素殺菌水道水中の存在が問題になっているMX [3-Chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone] のラットにおけるin vivoでの遺伝子毒性和細胞増殖作用を, 私達の開発したin vivo短期検索法で調べた。

[方法] MXをtetrachloroacetoneと(carbomethoxymethylene)triphenylphosphoraneを出発原料としてPadmapriya(1985)の方法で合成した。7週令F344雄ラットにMXを胃チューブで投与した。摘出した胃幽門腺部粘膜について, 遺伝子毒性の指標としてDNA一本鎖切断(DSS)と不定期DNA合成(UDS)の誘導を調べた。細胞増殖作用の指標として, 複製DNA合成(RDS)とオルニチン脱炭酸酵素(ODC)の誘導を調べた。

[結果] MXを体重1kg当り30mg投与すると2時間後にDSSを誘導した。60mg投与2時間後にUDSの誘導が示唆された。10-60mg投与16時間後に用量-反応性を示して最高21倍RDSを促進した。30-60mg投与で16時間後を頂点として, 用量-反応性を示して最高100倍のODCを誘導した。

[結論] MXはラット胃粘膜に遺伝子毒性和細胞増殖作用を示した。その作用は, 腺胃癌原物質MNNGと比べて, 遺伝子毒性が約1/10, 細胞増殖性は同定度と, 今までに報告した環境中の変異原物質でラットの胃粘膜にin vivoで作用した物質の中で最も強い。

O-16

オカダ酸の培養哺乳動物細胞に対する変異原性

○青沼志珠, 中易教江, 牛島俊和, 杉村隆, 長尾美奈子(国立がんセンター・発がん)

オカダ酸は, マウスの皮膚発がんにおいてTPAと同様なtumor promoter活性を示す。この物質は, protein kinase Cの活性化を起こさないが, セリン/スレオニンプロテインホスファターゼであるPP-1及びPP-2Aの強力な阻害剤である。近年オカダ酸は, マルチポテンシャルな生理活性物質として注目されている。

我々は, オカダ酸が培養哺乳動物細胞に対し変異原性を有するか否かを検討した。細胞は培養チャイニーズハムスター肺(CHL)細胞を用い, ジフテリア毒素抵抗性(DT^r)細胞の出現を指標とした。

CHL細胞をオカダ酸で処理し, 7日間のexpression timeを経た後, ジフテリア毒素0.1lf/ml存在下で培養し, DT^r細胞の出現頻度を調べた。オカダ酸は, 5~17.5 ng/mlの間で濃度に依存してDT^r細胞を出現させた。しかし20 ng/ml以上では, その頻度は減少した。オカダ酸によるDT^r細胞の出現頻度は15 ng/mlで23 DT^r/2.5×10⁵生細胞であった。またオカダ酸はCHL細胞に対し, 24時間処理において15 ng/mlで42%の細胞毒性を示した。しかし既知の変異原物質とは異なり, 3時間処理ではDT^r細胞の出現は見られなかった。現在, DT^r細胞出現の機構について解析している。

O-17

Salmonella typhimuriumの変異誘発能と2種類のumuDC遺伝子

○能美健彦¹, 羽倉昌志¹, 中井康晴², 渡辺雅彦¹, 祖父尼俊雄¹

(¹国立衛試・変異遺伝, ²帝人・生医研)

umuDCは大腸菌の紫外線や化学物質で誘発される突然変異において, 必須な役割を果たしている遺伝子である。今回, 我々はS. typhimurium TA1538から大腸菌umuDC変異株の紫外線突然変異誘発能(UV mutability)を回復させる遺伝子をクローニングした。単離した遺伝子は15.5kDaおよび47.7kDaの蛋白質をコードしており, プロモーター領域にSOS Boxが見出された。これらの結果から単離した遺伝子をS. typhimuriumのumuDCと結論した。大腸菌とS. typhimuriumのUmuDCをアミノ酸配列上で比較すると, UmuD同士は50%, UmuC同士は62%の相同性を示した。

一方, 英国と米国のグループはそれぞれ独立にS. typhimurium LT2から大腸菌のumuDCとハイブリダイズする遺伝子をクローニングしその塩基配列を決定した。我々の単離したumuDCを彼らのものと比較すると, アミノ酸レベルでUmuDについては49%, UmuCについては63%しか相同性を示さず, また遺伝学的性質も異なっていた。サザン法により, 我々の単離したumuDCはTA1538株だけでなくLT2株にも存在することが明らかになった。これらの結果からS. typhimuriumには2種類のumuDCが存在するものと結論した。pKM101プラスミドを持たないS. typhimuriumは, 紫外線や化学物質に対するmutabilityが, 大腸菌より低いことが知られている。クローニングされた2種類のumuDCとS. typhimuriumの示す低いmutabilityとの関連について討論する。

O-18

S. typhimurium高感受性株の分子基礎(その2): NR株, 1,8-DNP株における変異部位の同定, および活性中心の検索

○渡辺雅彦, 能美健彦, 祖父尼俊雄(国立衛試・変異遺伝)

演者らは, 昨年の本学会において, 高感受性YG株に導入されているS. typhimuriumニトロ還元酵素, アセチル転移酵素遺伝子の塩基配列を報告した。今回は, これら酵素の欠損株として知られるNR株, 1,8-DNP株における塩基配列レベルでの変異部位の同定, 並びにアセチル転移酵素の活性中心の検索を行ったので報告する。

TA1538NRおよびTA1538/1,8-DNP株(TA98NR, TA98/1,8-DNP株からpKM101を除いたもの)からクロモソームDNAを調製し, PCR法を用いてYG株に導入されているニトロ還元酵素, アセチル転移酵素と同じ遺伝子を増幅し, 直接塩基配列を調べた。その結果, NR株は, ニトロ還元酵素遺伝子の98番目のチミンがグアニンに変異しており, アミノ酸配列の33番目のLeuがArgに変わることが予想された。一方, 1,8-DNP株は, アセチル転移酵素遺伝子の590番目から連続する3つのシトシンのうち一つが抜けてフレームシフトが起こり, 途中でタンパク合成が止まってしまうことが予想された。以上のことから, YG株に導入されているニトロ還元酵素, アセチル転移酵素はNR, 1,8-DNP株において欠損しているものと同一であることが推察された。

つぎに, site-directed mutagenesis法を用いて, アセチル転移酵素遺伝子のArg65をAlaに, またCys69をAlaに変えたプラスミドを作製し, E. coli XL1-Blueに導入し活性測定を行ったところ, 両変異体とも完全に活性が消失した。この結果を基に, アセチル転移酵素の活性中心について検討を加えた。

O-19

MNNGの突然変異誘発におけるRecAの役割

○布柴達男、寺西利之、西岡 一(同志社大学、生化研)

MNNGによりDNAにO⁶-methyl guanineが生じると、複製に際してthymineが高頻度で取り込まれ、GC→ATのtransitionが誘発されること、その変異原性はSOS-mutagenesis欠損株(umuC欠損株)でも検出されることから、「MNNGの突然変異誘発は、SOS反応とは無関係である」とされてきた。しかし我々は、MNNGは①recAやlexA(Ind⁻)変異株では変異誘発頻度が低く、特にrecA変異株では殆ど変異原性を示さない、②recA遺伝子の発現量の増加に対応してL-Arabinose^rへの前進変異誘発頻度が高まる、③lexA変異株にpKY102(recA⁺)を導入すると変異誘発頻度が著しく上昇することなどを見だし、「MNNGの突然変異誘発にはRecAが関わる」と報告してきた。

今大会では、この機構をさらに明らかにするため、「RecAがAdaに作用し、Adaによる修復を阻害して突然変異を誘発する」、「RecAが変異の固定に直接関わる」との作業仮説を掲げ、①ada変異株、ada lexAの二重変異株、ada lexA/pKY102、②recAのLexA protease能変異株recA430とΔrecA株を用い、それぞれの株におけるMNNGの変異原性を検討した。その結果、①ada lexA株では低い変異誘発を示したが、pKY102導入により誘発頻度が著しく高まった。②ΔrecA株では変異は殆ど誘発されなかったが、recA430では、野性株の80%程度の変異原性を示した。以上の結果は、MNNGの変異誘発は、RecAとAdaの相互作用によるのではなく、RecAが直接的に関わること、ただしRecAのLexA protease活性は必要としない可能性を示唆している。現在、RecAのpol IIIのε-subunitの校正機能への関与について検討中である。

O-20

エイムステストに用いられたpKM101

のmucAB遺伝子の有するオンコジーン様活性

○田ノ岡 宏、戸須 真理子、田中 和彦、大津山 彰、篠崎 久美子(国立がんセンター、放射線)

mucABは大腸菌やサルモネラ菌において、DNA誤り修復を増強するものとして知られ、変異原を鋭敏に検出するためにエイムステスト法に応用されてきた。我々は、さきクロン化しておいたmucABをさらに、マウスメタロチオネイン遺伝子MT-1のプロモーターにつないでプラスミドpTE40を作り、これをマウス培養細胞BALB3T3のゲノムに組みこませたところ、メタル存在下において細胞を癌化させ、さらに癌化した細胞はヌードマウスに腫瘍を作ることをさきにみた。このときMucAタンパクのみが生成されており、その活性は細胞の増殖を促進させ、あたかもオンコジーン的作用の様であった。さらにこの欠失遺伝子、類似遺伝子umuDCの細胞を癌化させる作用についても調べた結果を報告する。

O-21

N-エチル-N-ニトロソ尿素によるマウス始原生殖細胞の突然変異と細胞死

○澁谷 徹・松田 洋・石原尚古・加藤基恵・原 巧(食品薬品安全センター・秦野研究所)

私達はこれまでにN-エチル-N-ニトロソ尿素(ENU)によって10.5日胚マウス始原生殖細胞(PGC)において突然変異が高頻度に誘発され、その頻度には明らかな用量作用関係が認められないことを報告した。そこでこれらのことを確認するために25mg/kgのENU単回と2回、O⁶-メチルグアニン(アルキル化DNA塩基修復酵素の基質、MG)単回とMGを前処理した25mg/kgのENU、さらに50mg/kgのENUをそれぞれ胎生の10.5日に処理したマウスPGCについての特定座位試験を実施した。雄雌のC3H/Heマウスを交配し、妊娠の10.5日にそれぞれの用量のENUあるいはMGを腹腔内投与した。生まれた雄および雌はそれぞれテスター系統のPW雌または雄と交配した。そしてF₁の毛色を観察してENUによってPGCに突然変異が誘発されたか否かを判定した。

その結果、25mg/kgのENUの2回投与群では単回投与群に比べ突然変異誘発率は2倍以上に高くなった。しかしMG前処理群では25mg/kg単回群と大差なかった。またMG単回群では突然変異の誘発はほとんど認められなかった。しかし、これらの結果はクラスター突然変異を含む突然変異体の出現を基に計算した場合であり、独立の突然変異事象を基に計算した場合は25mg/kgの2回投与群と50mg/kg群との間ではほぼ同じ誘発率となった。このことはPGCにおける突然変異の誘発に関しては、ENUによるPGCの細胞死が影響を与えることを示しており、PGCにおける特定座位試験では、これらについて総合的に考察する必要があることが明らかとなった。

O-22

ヘテロサイクリックアミン類のDNA損傷性とDNA修復阻害作用 ~大腸菌において~

○下位香代子、川端英樹、赤岩江里子、富田勲(静岡県立大・薬)

ヘテロサイクリックアミン類は、代謝活性化によりDNAを損傷し変異原性・がん原性を示すが、それらのDNA修復機構について検討する一方、細胞をUV照射した後に代謝活性化なしでヘテロサイクリックアミン類を作用させたところ、UV誘発突然変異に対して増強効果が認められたので、その作用機構についても検討した。

E. coli B/r系の種々のDNA修復欠損株を用いてS9mix存在下、Trp-P-1、Trp-P-2、MeIQ、MeIQxの致死性について比較検討した結果、DNA除去修復欠損株(WP2suvrA)および組換え修復欠損株(CM571recA)はTrp-P-1、MeIQ、MeIQxについては野生株に比べ10~100倍の感受性を示した。しかし、Trp-P-2はDNA除去修復欠損株においてはまったく感受性を示さず、除去修復系では修復されないタイプの損傷を誘発することが示唆された。

今回用いた10種のヘテロサイクリックアミン類のうち最も強い突然変異増強活性を示したTrp-P-1についてさらに検討したところ、(1)4NQO誘発突然変異も増強したが、MNNG誘発突然変異に対しては効果が認められなかった。(2)組換え修復欠損株においてUV誘発致死性を増大した。(3)DNA除去修復欠損株では突然変異増強作用も致死性の増大も見られなかった。

以上の結果より、ヘテロサイクリックアミン類(Trp-P-2を除く)は代謝活性化されるとDNA除去修復の対象となるようなDNA損傷を誘発するが、代謝活性化されない場合には、DNA除去修復を阻害し、その結果、UVタイプの変異原によって誘発される突然変異を増強させることが示唆された。

O-23 フェノールと亜硝酸との反応により生成するp-およびo-diazoquinoneによるDNAの切断と修飾

○小島一弘、斎藤夏子、加藤哲太、菊川清見 (東京薬大)

昨年度の本大会で、フェノールと亜硝酸との反応により生成する直接変異原物質 p-diazoquinone (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を示唆した。今回、p-DQの他に、その異性体であるo-diazoquinone (o-DQ) も加え、DNA鎖の切断反応を検討し、ヌクレオシドレベルでの反応生成物の構造を決定した。

Lambda DNA、 ϕ X174RF1 DNAをp-DQおよびo-DQとpH7.0で37°C、24hr処理したのち、アガロースゲル電気泳動を行った結果、いずれもDNA鎖の切断を認めた。DNAのリン酸ジエステル結合モデルとしてbis(p-nitrophenyl)phosphateを用い、これにp-DQを反応させたところ、リン酸ジエステル結合の切断が起こり p-nitrophenylphosphateと p-nitrophenolを生じた。

一方、p-DQをthymidine、deoxycytidine、deoxyadenosine、deoxyguanosine (dGR) と pH7.0で37°C、24hr反応させHPLCで定量した結果、いずれのヌクレオシドも減少し反応を受けていることが分かった。p-DQ、o-DQと、dGRおよび guanosineの反応生成物を、cellulose columnおよびHPLCを用いて単離精製した。UV吸収スペクトル、¹H-NMR、¹³C-NMRから、その構造は8位のp-hydroxyphenylおよびo-hydroxyphenyl付加体であることが明らかとなった。

以上、p-DQおよび o-DQはDNAと反応しDNA鎖を切断すると同時に塩基部への付加体も形成することが明らかとなった。p-DQおよびo-DQの直接変異原活性には、これらの反応が関与しているものと思われる。

O-24 on-genotoxic carcinogen(NGC)の発癌機構における酸化的DNA傷害

○黒川雄二、高木篤也、梅村隆志、佐井君江、長谷川隆一 (国立衛試 毒性部)

従来からNGCとしてよく知られているものとして、A.細胞・組織傷害物質：ペルオキシゾーム増殖剤 (抗高脂血症剤、プラスチック可塑剤)、肝毒性物質 (DDT, PCB, 四塩化炭素)、腎毒性物質 (鉄ニトリロ三酢酸)、抗酸化剤 (BHA)、物理的要因 (アスベスト、ウラシル) など。B.ホルモン不均衡惹起物質：エストロゲン、チオウレアなどがある。一方米国NTPの既存化学物質の発癌性試験の結果、発癌性陽性であった138物質の中実に45物質 (33%) がサルモネラを用いた復帰突然変異原性試験で陰性でしかもDNAとの化学的反応基を持たないという事実が判明しこれらはNovel Chemical Carcinogenと名付けられている。

これらのNGCの中で、ペルオキシゾーム増殖剤と腎毒性物質はその発癌機構にOxyradicalの関与が以前から予期されているので、酸化的DNA傷害のマーカーとして8-ヒドロキシデオキシグアノシン (8-OH-dG) を用いて標的臓器での検索を行なった。その結果、有意の8-OH-dGの上昇がアルミニウムクロフィプレート、シンフィプレート、ジエチルヘキシルフタル酸、パーフルオロオクタン酸などのペルオキシゾーム増殖剤投与ラット肝で、鉄ニトリロ三酢酸投与ラット腎で認められた。従って、NGCのあるものではOxyradicalによるDNA傷害の発がん機序への関与が示唆される。

O-25 ハムスター肝アセチルCoA依存性アリルアミンアセチル転移酵素(AT)をコードするcDNAの構造と発現

○小沢正吾、Medhat ABU-ZEID、永田清、宮田昌明、山添康、加藤隆一 (慶応大・医・薬理)

我々はシリアンハムスター肝より2種のアセチルCoA依存性のATを精製した(AT-IとAT-II)。これら2種の酵素は互いに免疫交差性を示すが、AT-Iは4-アミノアゾベンゼン(AAB)のN-アセチル化、N-ヒドロキシ-Glu-P-1のO-アセチル化の活性が高く、AT-IIはパラミノ安息香酸のN-アセチル化の活性が高いなど基質特異性が異なっている。またSDS-PAGE上でAT-Iは31kDa、AT-IIは30kDaを示した。我々はハムスター肝λgt11 cDNAライブラリーをスクリーニングし、全長1181bpで870bpの完全長アミノ酸翻訳領域を含むcDNAを得た。このcDNAはすでに報告のあるウサギ、ヒトのATのcDNAと約70%のホモロジーを示した。このcDNAを発現ベクターに挿入し、Cos 1細胞や大腸菌に導入したところ、細胞の9000×g上清分画にSDS-PAGEでAT-Iに相当するバンドが検出された。また、その分画にAABのN-アセチル化やN-ヒドロキシ-Glu-P-1のO-アセチル化活性が認められ、本cDNAはAT-Iをコードすることが示された。

O-26 癌原物質 6-Hydroxymethylbenzo[a]pyrene の Hydroxysteroid Sulfotransferase アイソザイム STa による活性化

○長谷川雅俊、奥田晴宏、小倉健一郎、渡部烈 (東京薬大・2衛生化)

【目的】癌原物質 6-hydroxymethylbenzo[a]pyrene (6-HBP) は、PAPS およびラット肝可溶性画分 (S105) 中の sulfotransferase (ST) 存在下、活性な 6-HBP sulfate へと代謝され、*S. typhimurium* TA98 に対して強い変異原性を示すこと、およびその活性化には顕著な性差 (雌>雄) が存在することを既に報告した。本研究は、6-HBP の PAPS-S105 系による活性化に対する hydroxysteroid ST (HST) アイソザイム STa の関与を明らかにすることを目的とした。

【方法・結果】1) STa は雌ラット肝 S105 より精製した。本酵素は、HST の代表的基質である dehydroepiandrosterone および各種ヒドロキシメチルアレンを硫酸抱合するが、phenol ST の代表的基質である 4-nitrophenol は基質としなかった。2) STa のラット肝 S105 中の存在量には著しい性差 (雌>雄) がみられた。3) 6-HBP は PAPS-S105 系存在下仔牛胸腺 DNA を修飾し、その修飾には顕著な性差 (雌>雄) が認められた。4) 6-HBP は、PAPS ならびに STa 存在下仔牛胸腺 DNA を高率に修飾した。

【結語】6-HBP のラット肝 S105 による活性化およびその性差の発現には、雌ラット肝により高濃度に存在する HST アイソザイムである STa が深く関与していることが明らかとなった。

O-27

種々の発癌物質のgenotoxicityに対するクロロフィリンの抑制効果の解析

○根岸友恵、早津彦哉 (岡山大・薬)

ショウジョウバエのwing spot test及び、in vivo DNA repair test を用いてクロロフィリンがTrp-P-2などの焼け焦げ変異原のgenotoxicityを抑制すること、Trp-P-2については、それがクロロフィリンとTrp-P-2の相互作用によるものと考えられることを既に報告した。

今回、さらに種々の発癌物質についてそれらのDNA傷害作用に対するクロロフィリンの効果調べた。発癌物質としては、ベンツピレンなどの芳香族炭化水素や2-アミノフルオレンなどの芳香族アミン、ニトロソジメチルアミンなどのニトロサミン類、4NQO、アフラトキシンB₁などを用いた。ショウジョウバエ培地中に発癌物質とクロロフィリン200mgを同時に加え、3令幼虫から成虫になるまで飼育し、雌雄の羽化率でDNA傷害作用の有無を検出した。その結果、平面構造を有する芳香族炭化水素や芳香族アミンの活性はクロロフィリン添加により顕著に抑制された。一方平面構造をとらないと思われるアルキルニトロサミンでは抑制効果は観察されなかった。そこで、クロロフィリンとの相互作用の有無をin vitroで調べるため等濃度混合液の吸収スペクトルと各々の吸収スペクトルの理論的な和との差スペクトルを調べた。その結果、抑制作用と差スペクトルともに観察される物質と、抑制作用はあるが顕著な差スペクトルは見られなかったもの、及び、いずれも観察されなかったものの3群に分けられた。従って抑制作用の機構として、明らかに相互作用が関与しているものと、差スペクトルでは観察されない何らかの作用によるものがあると考えられる。

O-28

クロロフィリン関連物質の変異原性抑制機構

有元佐賀恵¹、○稲田直実¹、頼 春樹²、中野浩美¹、根岸友恵¹、早津彦哉¹
(¹ 岡山大・薬、² タマ生化学研)

(目的) 我々は、クロロフィル及びクロロフィリン誘導体が、多環性化合物の変異原性を効果的に抑制することをすでに報告した。今回、さらに、種々のクロロフィリン誘導体の変異原性抑制効果の強さの違いを調べ、また抑制のメカニズムをUV吸収、HPLCを用いて検討した。

(方法) 変異原性検出は、Ames試験 (TA98, -S9) を用いた。また、クロロフィリン誘導体とTrp-P-2 (NHOH) を等濃度で混ぜた反応液について、Trp-P-2 (NHOH) のUV吸収の経時的变化をみた (25°C, pH 7.4)。さらに、鉄クロリン_{e6}-Na とTrp-P-2 (NHOH) の反応液をHPLCを用いて分析した。

(結果) Ames試験の結果、中心金属を持つクロロフィリン誘導体の中でも、鉄クロリン_{e6}-Naの変異原性抑制効果が高いことがわかった。また、他のクロロフィリン誘導体を用いた時に比べて、鉄クロリン_{e6}-Na とTrp-P-2 (NHOH) を混ぜた場合、258nmにおけるTrp-P-2 (NHOH) の吸光度の減少が速いことがわかった。その反応液をHPLCを用いて分析したところ、反応1分後ですでにTrp-P-2 (NHOH) のピークはみられず、新たにTrp-P-2のニトロソ体が生成していることがわかった。

(考察) Trp-P-2 (NHOH) の変異原性に対する鉄クロリン_{e6}-Naの抑制効果は、Trp-P-2 (NHOH) をすみやかに酸化してTrp-P-2 (NO) に変えるためであると考えられる。

O-29

5,5-dimethylpyrroline-N-oxideによるDimethylnitrosamineの変異原抑制について

○古川 秀之¹、河井 一明¹、北原 昇吾¹、江幡 淳子² (¹名城大薬、²阪市大生活科学)

[目的] Dimethylnitrosamine(DMNA)は遮光下においてS-9mix存在下に強い変異原性を示し、その変異原性はSOD、 α -tocopherolやMannitolなどの活性酸素消去剤によって抑制される。またこの変異原性が5,5-dimethylpyrroline-N-oxide(DMPO)のようなスピントラップ剤でも抑制されることについて述べたい。

[方法] 遮光下エイムス試験: 全操作を遮光下で行った。活性酸素類の確認: プレインキューベーションの時にDMPOを加え変異原性の測定と活性酸素の証明に供した。標準物質としてのO₂⁻や \cdot OHはそれぞれXanthine-Xanthine oxidase系及びH₂O₂+NaOH系で調製し、ESRスペクトルの方法で同定した。Salmonella typhimurium TA100株のSOD活性の測定: Salmonella typhimuriumはSOD活性を有し、TA100株にO₂⁻が作用することの合理性を求めめるにはSOD活性を有しないか、あっても微弱であることの検討が必要である。これについては江幡がOberleyらの方法を改変して行った。

[結果] 1) 遮光下エイムス試験で検出されるDMNAの約6000rev./25mgDMNA/plateの変異原性は活性酸素の生成に基づき等モルのスピントラップ剤DMPOにより spontan レベルまで抑制された。2) TA100株はSOD活性が微弱でO₂⁻の作用を妨げなかった。1)と2)の結果は1988年本大会で報告したDMNAの変異原性をSOD、 α -tocopherolあるいはマンニトールなどで抑制した結果と矛盾しない。

[引用文献] 1) R.A.Floyd, et al., Photochemistry and Photobiology, 28, 857-862(1978). 2) L.B.D.P.Malinowski, et al., J. Bacteriology, 134, 229-236(1978).

O-30

ゴボウによる変異原抑制と活性酸素消去について

○江幡淳子¹、菊地恵¹、杉永佳代¹、北原昇吾²、河合一明²、古川秀之²
(¹ 阪市大生活科学、² 名城大薬)

【目的】 ホウレンソウがAF2やTrp-P-1およびDimethylnitrosamine(DMNA)などの変異原を抑制し、また、活性酸素を消去することを本年4月の日農化大会(福岡)で発表したが続いてゴボウの変異原抑制、変異原抑制に必要な且つ十分な量、各種変異原に対する抑制率(抗変異原スペクトル)並びに活性酸素消去について述べたい。

【方法】 変異原抑制試験はAF2に対してはSalmonella typhimurium SD100、Trp-P-1などS9-mixを要する変異原に対してはSalmonella typhimurium TA1535/pSK1002を用いた。また、抗変異原スペクトルについてはTrp-P-1、Trp-P-2、Glu-P-1、Glu-P-2、Benzo[a]pyrene等を用いた。活性酸素の消去試験はXanthine-Xanthine oxidase系で生成するO₂⁻をnitro blue tetrazoliumに作用させ生成formazanの発色に対する抑制率で求めた。そのほかO₂⁻生成系や \cdot OH生成系を用いO₂⁻や \cdot OHに対するゴボウの消去能をESRの方法で測定した。

【結果】 ゴボウはAF2やTrp-P-1あるいはDMNAの変異原性をよく抑制し、O₂⁻や \cdot OHを消去する機能を有している。ゴボウの凍結乾燥標品のアセトン、エタノール抽出画分をシリカゲルクロマトグラフィーで分離して調べた抗変異原スペクトルはTrp-P-1に対し14%、Trp-P-2に対し68%、Glu-P-1に対し78%、Glu-P-2に対し84%、Benzo[a]pyreneに対し59%程度であった。演者はゴボウ(野菜)の変異原抑制指標として化学変異原の一定量(1 μ g或は1mg)を自然突然変異のレベルまで抑制するのに必要且つ十分な量で表すことを提唱したい。

O-31

フタル酸エステル類による変異原修飾作用

○佐藤佳代子, 佐藤孝彦, 永瀬久光, 鬼頭英明, 近沢和彦 (岐阜薬科大学 公衆衛生学教室)

S.typhimurium TA98株、E.coli PQ37株を用いて、プラスチックや塩化ビニル樹脂の可塑剤として広く用いられてる、Di-(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP)をはじめとするフタル酸エステル類 (PAE) の変異原性修飾作用について検討した。

S.typhimurium TA98株を用いたAmes testでは変異原物質として、間接変異原物質である、Trp-P-1, Trp-P-2 を用いた結果、Phthalic acid, Diisopropyl phthalate など20化合物中13化合物が変異原性の増強を示した。DEHPの生体内代謝産物であるMono-(2-ethylhexyl)phthalate (MEHP)でも同様に変異原性の増強がみられた。又、直接変異原物質として2-NFを用いてAmes testをおこなった結果、Phthalic acid, Diisopropyl phthalate, Di-n-octyl phthalate, DEHP, MEHP, の5化合物中2化合物で抑制作用がみられ、増強作用を示したものはなかった。

さらにE.coli PQ37株を用いたSOS chromotestでも5化合物について検討したが、Trp-P-1, 4-NQOのいずれに対しても変異原性増強作用はみられず、むしろ抑制作用を示したものもあった。

O-32

ビタミンC併用によるニコチンアミドの抗催奇性ならびに抗腫瘍性の増強効果

○後藤博子¹、野村大成²、濱田由香¹、濱田祐子¹、長谷川千鶴¹ (¹ 佐保短大 食物、² 阪大医)

従来より、癌の化学療法は長期にわたる大量投与を必要とし、副作用による弊害が問題となっている。我々が、その強い腫瘍抑制効果を報告してきたニコチンアミドを応用する際にも、大量投与による毒性が懸念される。副作用の軽減および抗腫瘍性と抗催奇性の相乗効果を期待して、今回はニコチンアミドとビタミンCの併用効果を調べた。

妊娠10日目のJCL:ICR マウスに、ウレタン1.0mg/gを皮下注射した後、ただちに、ニコチンアミドとビタミンCをそれぞれ1.0、3.0、または5.0%同時に含有する粉末飼料を0-48時間の間経口投与したところ、ウレタン誘発奇形が著しく抑制された。また大量投与の場合には、ニコチンアミド単独投与群の奇形抑制効果に対して、ビタミンCの併用効果は軽度ながら観察された。C3H/HeJ マウスに乳癌(#8)を移植した後、大量(5%)のニコチンアミドとビタミンCを同時投与したところ、移植腫瘍の増殖は有意に抑制された。移植後40日での腫瘍の体積は、対照群の約1/5、ニコチンアミド単独投与群の約1/2であり、腫瘍組織の重量(0.44±0.17g, n=13, 95%CL, p<0.001)も、対照群(2.64±0.5g, n=23)、ニコチンアミド群(0.74±0.2g, n=18)と比べて、それぞれ約83%または約41%と、ニコチンアミドとビタミンCの併用によって、有意(p<0.05)に抑制された。これらの結果はニコチンアミドとビタミンCの併用療法の有効性を示唆するものである。

示

説

P-1

変異原性試験のコンピュータ

システム化

○島田 弘康¹、伊東 悟¹、佐武 左知子¹、
服部 千春¹、大仁田 秀和²

(¹第一製薬・中研、²富士ファコム制御)

一般毒性試験、生殖毒性試験をはじめとする毒性試験の多くが、GLPに対応したコンピュータシステム化しているのに対し、変異原性試験では体系的にシステム化した例は報告されていない。今回我々は変異原性試験のうち、復帰突然変異試験、染色体異常試験および小核試験について、コンピュータによるGLP対応のシステム化を行った。

システム全体のホストとしてはUNIX系のSun S-4を、また端末としてFMRを用い、RDBとしてORACLEを使用し、ホストと端末間はEnthernetのLANによるオンラインとした。システムの開発に当たっては操作性を重視し、菌株・細胞・薬物の各管理画面をX-Window経由により随時参照できるようにし、試験計画および報告書作成を容易にしたほか、染色体異常所見の音声入力などman machine interfaceの関係の改善を心がけた。また、二重三重のセキュリティシステムによりGLPへの対応を計ったほか、運用面により非GLP試験への対応も可能となるよう工夫した。ここではシステム全体の概要と、各試験におけるシステム化の特徴について紹介する。

P-2

水道水中の変異原性有機塩素化合物MXの定量

○木苗直秀¹、山下みつ子¹、古郡三千代¹、杉山千歳¹、木村俊夫¹、降旗千恵²、松島泰次郎² (¹静岡県立大・食品栄養科学、²東大医科研・癌生物)

《目的》 塩素殺菌した水道水は多くの有機塩素化合物を含有している。それらのうちMX [3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone] がAmes法で非常に高い変異原性を示すことが欧米で既に明らかにされている。そこで、全国10地点における水道水についてMXの定量を行い、汚染状況の把握を試みた。

《方法》 全国10地点の水道水(40L)をpH2.5に調整して実験室に持ち込み、XAD-2000樹脂カラム(φ2×20cm)に通した。樹脂を水洗後、吸着物を酢酸エチル180mLで溶出した後、溶媒を留去した。残渣をD-ODS-5カラム(φ2×25cm, YMC-Pack)を用いてHPLCを行い、標準MXに相当する保持時間19.5-21.5分の画分を分取した。ついで、硫酸/メタノールでメチル化した後、GC-MS-SIM法で分析を行った。別に各試験水について変異原性試験及び、理化学分析を行った。

《結果・考察》 同一地点について、一定期間をおいて3回サンプリングを行った。酢酸エチル抽出物の変異原性は、水道水1L当り20-2000を示した。理化学分析値と比較したところ、特に過マンガン酸カリウム消費量の変異原性と強い正の相関性を示した。また、MX含量(0-数十ng/L)は試験水により大きなバラツキがみられたが、わが国においてもMXがその変異活性に大きく寄与していることが示唆された。

P-3

水中のフミン酸のオゾン処理と生成物のAmes試験

○林潤一郎¹、麻生真次¹、草壁克己¹、諸岡成治¹、常盤寛²、堀川和美²、世良暢之²
(¹九大工、²福岡県公害衛生センター)

浄水処理における塩素処理によってトリハロメタン類やその他の有機塩素化合物が生成し、その中に発ガン性や環境変異原性を示す成分が存在する。水道原水の汚濁に対して前塩素処理工程を加えることは、有機塩素化合物の生成をさらに助長することにつながる。前塩素処理の代替法のひとつとしてオゾン処理法が考えられる。そこで、本研究では、水道原水中の有機塩素化合物の前駆物質であるフミン酸をオゾン処理した。オゾン処理の効果を生産物の塩素処理による全有機塩素濃度と変異原性試験 (Ames Test) により検討した。処理水はXAD2樹脂で吸着による濃縮を行い、TA98およびTA100の菌株で試験を行なった。その結果、フミン酸溶液をオゾン処理した場合、変異原性はみられなかったが、塩素処理では変異原性を示した。オゾン処理をした後、塩素処理すると、オゾンによる酸化が不十分な場合には、逆に変異原性が増加する。しかし、初期における全有機炭素量の50%をオゾン酸化によって除去すると、変異原性物質の生成量は何ら前処理を行なわない場合の約1/10まで低減することができた。塩素処理溶液は酢酸エチル+2%炭酸水素ナトリウム水溶液で分画し、その水層をさらにジエチルエーテルと酢酸エチルで分画した所、弱酸性・中性画分が最も強い変異原性を示すことを明らかにした。

P-4

都市下水処理水中の遺伝毒性物質のオゾン処理による分解に関する研究

○小野芳朗、宗宮 功、河村正純
(京都大学工学部)

工場排水を含む合流式下水道の処理場では、処理水中の生物難分解性物質の存在が問題視されてきている。これらの遺伝毒性を調べるために、最終沈殿池流出水をXAD-2, Sep pak C18, Blue Rayonで吸着濃縮し、その濃縮物に関してumuテストを適用した。これらの樹脂等による有機物(TOC)の回収率は7~30%程度であった。このうち、umuテストで遺伝毒性を示したのは、Sep pak C18のメタノール画分であり、1000~1800倍の濃縮率で、+S9mixの系で対照の2~10倍と、強い陽性を示した。また-S9mixの系でも陽性を示すことがあった。

濃縮試料をSephadex G-25ゲルを用い、分子量分画し、各画分についてumuテストを適用した。この結果、分子量5000以上の画分が遺伝毒性を有することが示された。

処理水中に含有する生物難分解性物質を分解するためにオゾン酸化の適用を検討した。遺伝毒性を示した画分は、オゾン送入濃度40~60 mgO₃/l、ガス流量0.5 l/min、接触時間10~15分の処理で遺伝毒性が消失した。また、これをゲル画分で検討すると、分子量5000以上の毒性画分が優先的に酸化分解していることが示された。比較的低分子である分子量1000程度の画分はオゾン処理によっても残存し、分解しにくいことがわかった。

P-5

下水処理放流水中の Blue rayon 吸着変異原物質について

○阪本 博、早津彦哉 (岡山大・薬)

〔目的〕 Blue rayon法による淀川水系河水水の変異原性調査により、桂川流域に位置する下水処理場からの処理放流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わかった。また、既知の多環性変異原物質15種類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。そこで、これらの変異原物質の本体を明らかにするために、分離と精製を試みた。

〔方法〕 変異原物質の精製は、HPLCの分離条件を変えて繰り返すことにより行った。またHPLCの流出液は、242nm、254nm、280nmの3波長での吸光度測定および380nmでの蛍光測定(励起波長254nm)でモニターした。HPLCによる分離を繰り返すことにより、各モニターのクロマトグラム上で単一のピークが得られたのでこれを分取し、変異原活性を調べるとともに吸収スペクトルを測定した。

〔結果及び考察〕 下水処理放流水中より変異原物質3種の精製物および1種の粗精製物を得た。3種の精製物の吸収スペクトルから、吸収極大波長での10Dユニット当りの変異原活性 (*S. typhimurium* TA98, +S9) は、それぞれ 50,000 rev. (λ max. 291nm)、200,000 rev. (λ max. 393nm)、180,000 rev. (λ max. 391nm) と推定できた。したがって、これら物質の変異原性は非常に強いと考えられる。また精製物および粗精製物について、0-ATase高産生株YG1024 (+S9) での変異原活性を調べたところ、TA98より150~250倍高い感受性を示した。このことからこれら4種の変異原物質は芳香族アミンであることが示唆される。

P-6

ベンゾアントロンと二酸化窒素の光化学反応による変異原性物質の生成

○久松由東 (国立公衆衛生院)

ピレンなどの多環芳香族炭化水素類とNO₂との不均一反応にSO₂を添加することにより反応が促進し、これらの反応を光照射のもとで行うと、反応は著しく促進し反応生成物の変異原性も高くなることを報告した。今回はS-,0-複素環式化合物であるジベンゾチオフェン、ジベンゾフランやアントロン、ベンゾアントロンについて、(SO₂+NO₂)混合ガスとの光化学反応を行い反応生成物の変異原性試験をTA98菌株を用い、S9mix無添加のもとで行った。ジベンゾチオフェンとの光化学反応生成物の変異原性をほとんど示さないが、ジベンゾフランとアントロンの光化学反応生成物の変異原性は弱く、6時間の光照射による反応生成物の復帰変異コロニー数は、 μ g当りジベンゾフラン、約70、アントロン、約110であった。アントロンにベンゼンが1個付加したベンゾアントロンの光化学反応生成物の変異原性は強く、2時間の光照射で復帰変異コロニー数は μ g当り約20,000であった。この反応生成物中には、ピレンにおけると同様に強変異原性物質の生成していることが推察されるので、変異原性物質の分離および単離を行っている。なお、光無照射のもと、40時間反応させた反応生成物の変異原性は μ g当り約200であった。

P-7

大気粒子状物質からのジニトロベンツピレンの検出とその性状について

○世良暢之, 堀川和美, 甲斐麻美子,
村上光一, 常盤 寛
(福岡県衛生公害センター)

今回、新たにチリ大気粒子状物質から高い変異原性を示す3,6-ジニトロベンツピレン(diNBP)を検出したので検出上の問題点及びその性状について検討した。従来環境試料中の変異原物質を分析する際、遮光条件下、ジクロロメタンで超音波抽出、液-液分配、シリカゲルカラムクロマトグラフィー、セファデックスLH20、HPLCで分離、精製後、GC-MSにより分析を行っていたが、3,6-DNBPはジニトロピレン(diNP)、ジニトロフルオランテン(diNF)に比べ、光に対して非常に敏感で分解しやすい上、GC-MSで分析できないため、操作はすべて暗室下で行い、カラムクロマトグラフィーによる分離を行わずに、HPLCによる精製を繰り返した後、直接導入法によりMSで分析する必要がある。ベンツピレンを照射下、二酸化窒素(NO₂)、二酸化硫黄(SO₂)、硝酸ガス(HNO₃)と反応させると3,6-DNBPが生成されるが、光を照射したままにしておく速やかに分解していく。しかし、生成した3,6-DNBPに粒子状物質を一緒にすると紫外線を照射してもかなりの期間安定である。実際、当所の屋上で冬大気を昼夜に分けて採取し変異原物質を分析したところ、diNP、diNF、diNBPは昼夜試料から検出されるが、昼間試料の方により高濃度に検出される。これらの室内、室外の実験結果よりジニトロ化合物はNO、NO₂、SO₂、HNO₃濃度が高く、太陽光が照射している昼間に多く生成された後、粒子状物質中に取り込まれ、安定化しているものと考えられる。

P-8

都市大気中のガス状物質の変異原性

○神谷明男¹、水谷弘雄¹、麻野間正晴²
(¹名古屋市公研、²名古屋市衛研)

(目的) 環境大気中の変異原性についての報告は多いが、その多くは粒子状物質の変異原性についてのものである。発生源から排出されるものはガス状のものが多いにもかかわらず、環境中のガス状変異原性についての報告は少ない。よって、環境大気中のガス状物質の変異原性をモニターするための条件をエームスアッセイにより検討した。

(方法) 公害研究所および名四国道いで、ハイポリウムエアサンプラーのろ紙の後にXAD-2、又はポリウレタンホームプラグ(PUPP)を2段に取り付け粒子とガスを採取し、ジクロロメタン:アセトン(1:1)で抽出した。試験菌株はTA-98とYG-1024(TA-98/pYG219)を使用した。YG株は国立衛試より恵与された。試験は±S-9mix、プレインキュベーション法によった。

(結果) 得られた結果の概要は次の通りである。①XADを使用した場合、TA-98株(-S-9mix)の致死作用が著しく、Dose-response curveが得られない。+S-9の時はこの限りでない。②テトラサイクリン耐性を持つYG-1024を用いると、Dose-response curveは得られるが、まだ菌のサバイバルは低い。XADは大気中の殺菌作用を持つガス状物質を吸着する。③PUPPでガス状変異原を吸着し、YG-1024株を用いるのが条件として最も優れている。④6、7月のガス状変異原活性は全体の40-60%(+S-9)、20-30%(-S-9)を占めている。⑤同一の大気試料にたいして、YG-1024はTA-98より+S-9で10-15倍、-S-9で20-25倍の感度を得られる。

P-9

大気中粒子状物質の変異原性(第4報)
--- 経年変動と将来予測 ---

○真鍋 芳樹、朝倉 正登、後藤 敦、
実成 文彦(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3年間に亘り調査検討した。

今回はこの3年間の結果を基に、変異原性の経年変動を分析するとともに、ARIMA(AutoRegressive Integrated Moving Average)モデル分析法等、2,3の時系列分析法を用いて変異原性の変動の将来予測を行った。

試料の捕集等は従来報告してきた通りを行い、Ames法を用いて変異原性を測定した。

大気1m³あたりの捕集粒子状物質量は20~144μg、抽出物1mgあたりの変異原性は、TA98(-)S9で385~3330、TA98(+)S9で750~4050、TA100(-)S9で395~2250、TA100(+)S9で520~3560であった。大気1m³あたりの変異原性は、TA98(-)S9で4.7~52.9、TA98(+)S9で6.8~46.6、TA100(-)S9で1.7~46.3、TA100(+)S9で5.3~47.1であった。

次に、変異原性の変動の将来予測を時系列分析法を用いて行った。ARIMA分析法は、指定した回数差分後の時系列データを自己回帰過程と移動平均過程の2種の過程の合成ととらえ、分析を行なうものである。

3年間という比較的短い期間の結果を用いての将来予測なので、長期間の結果が蓄積しているbenzo(a)pyreneの結果をも用いてARIMAモデルの予測等を試みた。

P-10

大気中変異原活性の経時変動
-寒冷地における冬期試料について-

○松本 寛, 中嶋敏秋, 酒井茂克, 秋山雅行
(北海道公害防止研究所)

[目的] 冬期の比較的汚染の著しい日に短時間サンプリングを行った大気浮遊粉じんについて、主としてTA98株およびそのNRase、OATase高生産性または欠損株を用いた変異原性試験を行い、変異原活性の経時変動および活性へのニトロアレンからの寄与等についての検討を行った。

[方法] 大気浮遊粉じんの採取は、1990年2月、札幌市においてHVサンプラーにより2時間毎に石英繊維フィルター上に行った。超音波抽出して得られたタールを検体として、TA98、TA100、TA98NR、TA98/1,8-DNPおよびYG系菌株(国立衛試より分与)を用いて変異原性試験を行った。また、同一検体について、BaPを含むPAHおよび1-NPの分析を行った。

[結果] ①各菌株による変異原活性の経時変動は、最低値に対して最高値は5倍前後の大きい幅を示した。②各菌株による変異原活性は、朝方および夜間にピークを有する、相互によく似た変動パターンを示した。③各菌株による変異原活性と、NO₂、BaPを含むPAHおよび1-NP等との間には強い相関関係が見られた。④TA98株およびその誘導株による大気浮遊粉じんに対する感受性は、全ての試料についてYG1024>YG1021>TA98>TA98NR>TA98/1,8-DNPの順となり、NRaseによって活性化される物質よりもOATaseによって活性化される物質の活性への寄与がより大きいことが強く示唆された。

P-11 大気浮遊粉じんの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、遠藤治¹、松下秀鶴¹、V.S.HOUK²、L.D.CLAXTON²、J.LEWTAS²

(¹公衆衛生院、²U.S.EPA)

(目的) 大気浮遊粉じん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の変異原性を測定し、評価する必要がある。Ames法による変異原性評価には、数枚のプレートからの dose-response 関係から得られる変異原比活性 (単位汚染物当りの復帰変異コロニー数) が一般に用いられているが、最近開発されたスパイラルアッセイ法では、1枚のプレートでこの dose-response 関係を得ることが出来る。本研究では、このスパイラルアッセイ法の大気浮遊粉じんの変異原性測定への適用について Ames法を用いた場合と比較検討した。

(方法) 試験菌株には、サルモネラ菌 TA98、TA100、YG1024 及び YG1029 の 4 菌株を用いた。被験試料は、1989年11~12月にかけて国立公衆衛生院屋上で採取された大気浮遊粉じんの溶媒抽出物を用いた。試験装置には、スパイラルプレーター及びデータプロセッサ付レーザーコロニーカウンターを用いた。

(結果) 得られた結果の大要は次の通りである。①一夜培養した菌懸濁液を10~20倍に濃縮して用いると、良好な dose-response 関係が得られることを認めた。②結果の評価には、同一試料に対して5枚程度のプレートによる試験が必要であることを認めた。③復帰変異コロニー数が多いものほど再現性が良好であることが判った。④Ames法による大気浮遊粉じんの変異原比活性との相関は良好 (いずれも危険率0.001%以下) であった。

P-12 YG株による大気浮遊粉じんの変異原性

○松下秀鶴、後藤純雄、田辺潔、遠藤治、小谷野道子、杉田和俊 (公衆衛生院)

(目的) ニトロレンは大気浮遊粉じん中の主要な癌・変異原物質である。YG株はニトロ還元酵素や7αヒドロキシル酵素の高生産性プラスミドを有し、環境中のニトロレンの変異原性検出に有効であることが知られている。本研究では、YG菌株の大気浮遊粉じんの変異原性試験に対する有効性を調べることを目的として、従来株との比較検討を行った。

(方法) 大気浮遊粉じん試料は、1988年11~12月 (33試料) 及び1989年11~12月 (35試料) に公衆衛生院屋上にて採取した。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、YG1026、7αヒドロキシル酵素高生産性プラスミドを導入した YG1024、YG1029 の 6 菌株を用いた。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法により行った。

(結果) ①大気浮遊粉じんの変異原性は、TA100系の菌株では YG1029 > YG1026 > TA100、TA98系の菌株では YG1024 > YG1021 > TA98 の順となり、7αヒドロキシル酵素高生産性プラスミドを導入した株が高い感受性 (max 11倍) を示した。②同一菌株による S9mix 添加の有無による変異原性の強さ (平均値) を比較すると、TA100、TA98 では -S9mix > +S9mix、YG1029 では反対に +S9mix > -S9mix であった。YG1024 では、年により異なり、88年試料は +S9mix > -S9mix、89年試料は -S9mix > +S9mix であった。③YG株と従来株の相関はいずれの場合も危険率0.001以下で有意の相関を示した。④これらの結果は、YG菌株が大気浮遊粉じんの変異原性検出に有効であることを示唆している。

P-13 ディーゼル粉じん抽出物の変異原性とその活性に及ぼす共存物質の影響

○遠藤治、田辺潔、後藤純雄、松下秀鶴 (国立公衆衛生院・地域環境衛生学部)

(目的) ディーゼル粉じんをはじめ、環境汚染物質の多くは多種多様な物質群により構成される complex mixture である。これらの中には癌・変異原物質ばかりでなく、その活性を修飾する物質が共存しているものと考えられる。本研究では環境汚染物質の有害性低減への基礎資料とすることを目的として、ディーゼル粉じん抽出物の変異原性とその活性に及ぼす共存物質の影響を調べた。

(方法) ディーゼル粉じん試料は、結核予防会結核研究所内に設置されたディーゼル排ガス動物曝露実験施設の希釈トンネル排ガスを用いた。Benzene-ethanol/Sohxlet 抽出後、液-液分配操作により、酸性、中性芳香族、中性脂肪族、塩基性の4成分に分画した。中性芳香族画分に及ぼす他の画分及び acridine (ACR) 及び dibenz[a,h]acridine (DBA) の影響を調べた。変異原性試験は、TA98、TA100株を用い、S9mix 添加・無添加両条件下でプレインキュベーション法により行った。

(結果) ①粗抽出物は、菌株、S9mixの有無にかかわらず変異原性を示したが、TA98よりもTA100に、+S9mixよりも-S9mixに強い変異原性を示した。②分画物では、芳香族画分が強い変異原性を示し、酸性画分がこれに次いだ。中性脂肪族画分、塩基性画分には変異原性は認められなかった。③芳香族画分の変異原性に対して、酸性画分、中性脂肪族画分(-S9mix)は促進的に作用した。DBAは抑制的に作用した。ACRは-S9mixでは抑制的に、+S9mixでは促進的に作用した。④これらの結果は、ディーゼル粉じん物等環境汚染物質の有害性低減に際し、共存物質の影響も十分考慮する必要があることを示唆している。

P-14 ディーゼル排ガス粒子の変異原性に対する環境要因の影響

山田和正、布柴達男、○西岡 一 (同志社大・生化)

ディーゼルエンジン排ガスの変異原性についてはこれまでに多くの報告があり、すでにその有力な変異原物質として、ニトロピレン類が同定されている。これらが大気に放出されると、さまざまな環境要因によってその変異原性は大きく変化を受ける可能性がある。そこで今回は、ディーゼル排ガス粒子の変異原性に対して、可視光、紫外線、pH、温度などがどのように影響するかを検討した。

国産ディーゼル車 (2.4L、1988年式) をエンジンの回転数は1700~2880rpmとし、排出口から7cmの距離に直径11cmのガラス繊維フィルターを直角に置き、排ガス粒子を各時間にわたって吸着捕集した。このフィルターを、1.白色蛍光灯 (20w) から48cmの距離で24時間照射、2.ブラックランプで同様に照射、3.硝酸溶液 (pH4、10ml) に浸して暗室に24時間静置、などの処理をした。処理されたフィルターを150mlのアセトンで1時間振盪抽出し、減圧乾固後、DMSOに溶解させて試料とした。変異原性試験はサルモネラ菌 YG1021、1024、1026および1029の各株を用いて行われた。その結果、無処理の試料1.0mg/plateは各株で100~200程度の突然変異コロニーを生じた。これに対して可視光照射された試料では約2倍、紫外線照射では約1.5倍、硝酸処理では約3倍に突然変異コロニー数が増加した。これらの結果は、ディーゼル排ガスの変異原性は環境要因によって著しく高められる可能性を示唆した。

さらに太陽光、酸性雨などの環境要因および加熱や吸着剤処理がディーゼル排ガスの変異原性にどのように作用するかなどについて得られた結果を報告する。

P-15 空気中の変異原性浮遊粒子の肺内沈着量の測定法

○福田裕子¹、後藤純雄²、遠藤治²、田辺潔²、小谷野道子²、片山敬¹、松下秀鶴²
(¹東京理科大学、²国立公衆衛生院)

(目的) 我々は、絶えることなく空気を呼吸をしているが、この空気中には、通常、変異原性物質を含む浮遊粒子が、微量存在している。これらの変異原性浮遊粒子の肺内沈着量(率)を求めることは、環境変異原性物質への経気道人体曝露を正確に評価し、急増する肺がんへの対策を講ずる上で極めて重要である。そこで、本研究では、日常生活下での変異原性浮遊粒子の肺内沈着量を測定する手法を開発することを目的とした。

(方法) 浮遊粒子の肺内沈着率は、単位呼気中の浮遊粒子の変異原性と、単位空気中の浮遊粒子の変異原性の差から求めることとした。被験試料の変異原性は、サルモネラ菌TM677株を用いるultramicro forward-mutation法で求めた。呼気及び空気中の浮遊粒子の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) ルドルフマスク、粒子捕集用フィルター、及び呼気流量積算計を直列に接続して試料を採取する方法では、エアバックなどを用いる方法と較べて被験粒子の吸着を低下させることが可能であることが判った。通常、浮遊粒子の採取に用いられる石英繊維フィルターや、グラス繊維フィルターでは、呼吸に負担がかかるため、上記フィルターの約1/2の圧力損失値を示すテフロンパウダーろ紙を用いることにより、呼吸に対する負担を低減させることができた。また、30分の試料採取(呼気平均流量; 約 6.4~8 L/min)でも喫煙者の部屋での試料の変異原性測定が可能であることも判った。

P-16 個人曝露空気浮遊粒子試料の変異原性(II)

○小林敬二¹、後藤純雄²、遠藤治²、石井忠浩¹、Joellen Lewtas³、松下秀鶴²
(¹東京理科大、²国立公衆衛生院、³U.S.EPA)

(目的) 環境中の変異原性物質への経気道曝露実体を把握することは、急増する肺がん等への対策を講じるうえで重要である。経気道曝露実態を把握するためには、個人生活が多様化している現在、携帯可能なミニポンプ等で得られた試料を直接測定するような個人レベルでの調査が必要である。そこで本研究では、昨年度に続き、ミニポンプで採取された空気浮遊粒子の変異原性をultramicro-forward mutation法を用いて測定したので、その結果を報告する。

(方法) 空気浮遊粒子試料は、携帯可能なミニポンプ(柴田科学、MP-15CF:500g)を用い、25mmφの石英繊維フィルター上に、約 1.5L/minの吸引流量で24時間採取した。空気浮遊粒子中の有機成分はジクロロメタンを用いて超音波抽出法で抽出した。被験試料の変異原測定には、サルモネラ菌TM677株によるultramicro-forward mutation法を用いた。

(結果) 関東地方在住の喫煙者3名、非喫煙者4名を対象として、平成元年12月に24時間ずつ7日間にわたって試料採取し、変異原試験を行った結果、①喫煙者の試料から良好なdose-response関係が得られ、非喫煙者の試料でも弱いながらも、それが確認された。②変異原比活性を比較したところ、喫煙者の試料は、非喫煙者の3~15倍の変異原性を与えることが認められた。③喫煙者の試料は、1人の非喫煙者の1日の試料を除き、全て高い変異原性を与えた。

以上のことから喫煙は、変異原性物質への個人曝露の要因の一つであることが判った。

P-17 樹木の葉に蓄積されている変異原性多環芳香族化合物量の評価

○鈴木潤三、桑山京子、鈴木静夫
(東京理大・薬)

環境中に生育している植物は気孔呼吸を通じて大気の浄化作用を行っていると考えられているが、多環芳香族化合物の浄化に関する報告は殆ど見られない。そこで、大気中の変異原性・発ガン性多環芳香族化合物の浄化に対する樹木の葉の寄与を明らかにするため、様々な大気環境に生育している街路樹等の樹木の葉に蓄積されている変異原性多環芳香族化合物量の評価を試みた。

高速道路、東京都市街区、郊外等の交通量の異なる地域から採取した各種樹木の葉(湿重15-30g)を酢酸エチルにより超音波抽出後シリカゲルカラム(ベンゼン溶出)によりクリーンアップした試料について、Salmonella typhimurium YG1020, YG1021, YG1024を用いて変異原性試験を行った。また同じ精製試料について蛍光-HPLC(ニトロ化合物はポストZn-カラム還元)によりベンゾ[a]ピレン、ベリレン、4-ニトロビフェニルを定量した。

いずれの試料の変異原性もラット肝S9存在下よりも非存在下で、またYG1020よりも、ニトロレダクターゼ高産生株のYG1021やアセチルトランスフェラーゼ高産生株のYG1024に対して高い活性を示した事から、樹木の葉に変異原性のニトロアレーンが蓄積されているものと考えられた。また環状7号線脇に生育するツツジの葉から得られた抽出物の変異原性及びベリレン含量は八王子郊外の民家の庭から得られた試料よりも約10倍高いことが確認された。

P-18 調理食品の突然変異原性について [XI] 鶏肉の加熱による変異原性と その抑制について

○久岡祥子、村岡知子
(山陽学園短大、食物栄養)

フライパン調理した獣鳥肉類の変異原活性は、肉の種類、使用油脂等により異なることをこれまで報告してきた。本実験では、活性抑制効果があるとされる野菜等を焼肉と共に摂取した際、どの程度の活性抑制を期待できるのかを検索した。

鶏ささみ肉空焼きに0.1N HClを加えてホモジナイズ後遠心し、その上清を試料液とした。調理後肉重量5g分上清の変異原活性を対照とし、野菜や果汁の添加量に伴う活性の低下を比較検討した。試料液からの活性物質の抽出には青綿を用い、変異原活性測定はサルモネラ菌TA98(+S9)により行った。

鶏ささみ肉空焼き5gの変異原活性(対照)は、今回の方法では 700~850 His⁺ revertantsであった。人参やかぼちゃのホモジネート添加では、生だけでなくゆでたものにも、更にそれらのろ液にも変異原活性低下作用が認められた。人参10g 添加により対照の約3/5の活性となり、それ以上添加しても活性は低下しなかった。かぼちゃでは30g 添加により対照の約2/3の活性となった。

レモン果汁では、市販の濃縮還元果汁に比べFresh juiceの方が活性低下に有効であり、Fresh juice 5ml 添加により変異原活性が対照の約1/6にも抑制された。オレンジ果汁によっても活性が低下したが、レモン果汁ほどではなかった。柑橘果汁に顕著な抑制効果がみられたのは、有機酸、あるいは有機酸とアスコルビン酸との相乗効果によるのではないかと考えられ、更に追求していきたい。

また、鶏ささみミンチ肉に果汁を加えて成型後空焼きした結果、肉中の水分量増加による活性低下はみられたものの、加熱時に果汁を添加することの有効性は認められなかった。

P-19 クレアチン熱分解物中の変異原物質

○糠谷東雄¹、渡辺浩樹¹、辻 邦郎¹、小菅卓夫¹、若林敬二²、長尾美奈子²、杉村 隆²
(¹静岡県立大薬、²国立がんセンター研)

アミノ酸・蛋白質の熱分解物の研究で、クレアチン熱分解物が強い変異原性を示し、今までに知られている変異原性ヘテロサイクリックアミンとは異なるタイプの変異原物質を含むことが示されていた。また、クレアチン(クレアチニン)はIQタイプの変異原物質のアミノイミダゾールの部分構造の前駆体としても注目されている。そこで、クレアチン熱分解物中の変異原物質の構造を明らかにすると共に、変異原物質前駆体としてのクレアチンの役割について検討する目的でクレアチン熱分解物の分離研究を行った。その結果、強い変異原性を持つ化合物の単離に成功し、この化合物の構造をX線結晶構造解析により、4-amino-1,6-dimethyl-2-methylamino-1H,6H-pyrrolo(3,4-f)benzimidazole-5,7-dioneと決定した。本化合物は新規化合物であったので熱分解物から単離された他の変異原物質に習い Cre-P-1と命名した。Cre-P-1はSalmonella typhimurium TA98(+S9mix)に対して、0.1 μ gあたり2100rev.の活性を示した。Cre-P-1は、現在知られている変異原性ヘテロサイクリックアミンとは、イミダゾール環の2位のアミノ基がメチル化されていること、環窒素の α 位以外に芳香族アミノ基を持つこと、そして分子内に酸素原子を含むという三つの点で異なっていた。また、クレアチン(クレアチニン)がIQタイプの変異原物質の前駆体として、イミダゾールの部分構造だけでなくベンズイミダゾール及びそれ以上の部分構造まで供給し得ることを示唆している。

P-20 植物性食品(タイ国産)の変異原性

○Usanee Vinitketkumnuen^{1,2}、松島泰次郎²(¹Chiang Mai 大医、²東大医科研)

タイ国で料理のときに調味料として広く用いている chilli-paste に変異原性が認められたので、それに用いている植物性食品の変異原性の有無を、サルモネラ変異原性試験で調べた。

乾燥した植物性食品をエタノールで抽出し減圧乾固した。抽出物を水またはDMSOに溶解し、サルモネラTA98, TA100を用いてS9 mixの有無で変異原性を調べた。

Shallot は、調べた試料のすべてが、TA98, TA100にS9 mixの有無で明確に変異原性を示した。Greater galangal, garlic, leech lime, coriander seed, caraway seed, pepper は、試料によって弱い変異原性を示し、変異原物質の存在が疑われる。Lemon grass には変異原性を認めなかった。

Shallot の抽出物をHPLCを用いて分画した結果、複数の変異原物質が含まれていることが示された。また Hesperidinase 処理により変異原性が発現、増加する分画があり、配糖体として存在する変異原物質の存在が示された。

P-21 大根とその加工品の亜硝酸処理による変異原物質の生成

○笹川千晶、松島泰次郎(東大・医科研)

食品を酸性条件下で亜硝酸処理すると変異原物質を生成することが報告されており、その前駆体として indole 化合物が白菜や空豆から分離同定されている。大根は白菜と同様あぶらな科に属しglucosinolate含量が高い。indole glucosinolateは、酵素(myrosinase)や、酸性あるいは塩基性条件下で、種々の indole誘導体に分解される。これらの indole誘導体は亜硝酸処理により変異原物質を生成することが知られている。そこで大根とその加工品について pH3 で亜硝酸と反応した後、変異原物質の生成をしらべた。

大根、切干大根(4種)、たくあん(2種)を凍結乾燥後粉碎し、ソックスレー抽出器を用いてメタノールで抽出し減圧乾固した。抽出物を10倍量の水で溶解し、亜硝酸ナトリウムを40mMになるように添加し、塩酸でpHを3に調整した後、暗所で37 $^{\circ}$ C、1時間振盪した。スルファミン酸アンモニウムにより反応停止し減圧ろ過後、変異原試験をサルモネラ TA98, TA100 と大腸菌 WP2uvrA/pKM101を用いて調べた。

亜硝酸処理後、大根、切干大根、たくあんは全ていずれかの菌株で変異原性を示した。切干大根、たくあんの変異原性は大根よりも強かった。また一般的にS9添加により変異原性は減少した。これらの変異原性は同じ加工品であっても3菌株に対する発現のパターンが異なっており、3菌株に対する感受性の異なる変異原物質が生成していると考えられるので、前駆体の本態を検討している。

P-22 米糠の亜硝酸処理によって生成する変異原性について

○早津 聰子、明石 牧子、早津 彦哉(岡山大学・薬)

さきに、米飯および玄米飯を亜硝酸処理すると、ブルーレーヨン吸着性の変異原性が出現することを報告した。今回はこの原因物質が米糠に多く存在するのを見だし、研究したので報告する。

米糠に水を加え、高圧滅菌操作により抽出した。冷却後、50 mM 亜硝酸-pH 3で処理し、次いでアセトン抽出した。抽出液よりアセトンを溜去してから水を加え、ブルーレーヨン吸着を行なった。吸着物をメタノール-トリフルオロ酢酸で溶出した部分は、サルモネラ菌 TA98 及び TA100 で変異原性を示した(-S9)。この活性部分につき、高速液クロ分画したところ A, B, C, D と名づけた4つの活性分画が得られた。A, B, C は TA100 のみで陽性、D は TA98 及び TA100 で陽性であった。

次に米糠を高圧滅菌しつつ抽出した液中の変異原前駆体を調べた。抽出液をブルーレーヨン吸着し、吸着物を高速液クロで分画し、各フラクションを亜硝酸処理することによって、前駆体の存在を検出した。1つのフラクションにだけ変異原性が現われ、この活性物質は高速液クロ分析で上述のBと一致した。従ってBの前駆体は多環性物質であろうと推定された。米糠の水抽出を37 $^{\circ}$ Cで行なってもBの前駆体は得られたので、この前駆体は糠に元来含まれている成分である。現在このB前駆体の精製をさらに進めている。

P-23

天然添加物の Ames 試験による変異原性
亜硝酸処理による影響

○麻野間正晴¹、宮部正樹¹、宮崎仁志¹、
山本勝彦¹、坂部美雄² (¹名古屋市衛研、
²中京女子短大)

天然物中には種々の変異原物質および発がん物質の存在が知られている。我々は昭和55年度以来、天然物から抽出・精製等により製造される食品添加物(天然添加物)の安全性評価の一環として Ames 試験を行い、天然添加物中に変異原活性を示すものがあることを報告してきた(日本環境変異原学会12回大会、日本食品衛生学会56回大会)。今回は天然添加物に対する亜硝酸処理の影響について検討したので報告する。

試料には着香料、着色料、糊料等の50品目の天然添加物を用いた。試料を pH1 および pH3 の酢酸ナトリウム-塩酸緩衝液で溶解または懸濁し 5000ppm の亜硝酸ナトリウムと 37°C で 1 時間反応させ、スルファミン酸アンモニウムを加え反応を停止した後 TA98、TA100 および TA1537 株を用い Ames 試験を行った。その結果、カカオ色素、カキ色素およびゲンチアナ抽出物の変異原活性が顕著に増加した。そこでカカオ色素およびゲンチアナ抽出物について亜硝酸濃度および pH の反応におよぼす影響を検討した。カカオ色素は pH3 でゲンチアナ抽出物は pH1 で変異原活性が最も強く、ともに亜硝酸量の増加にともない変異原活性も増加した。しかし、ゲンチアナ抽出物では反応の進行にともない細胞毒性があらわれた。変異原活性を示す物質と細胞毒性を示す物質が同一物質か否かについて現在検討中である。

P-24

γ線照射香辛料の変異原性

○坂本 京子、森久保 桂子、高鳥 浩介、
粟飯原 景昭 (食薬センター、秦野研)

香辛料の多くは熱帯で産出されカビや雑菌等に汚染されることが多い。しかしながら用いられるエチレンオキサイドガスは変異原性を有する線照射による殺菌効果が望まれている。その安全性の確認が重要となっている。

これまで様々な香辛料について、γ線照射した場合の成分変異に関する研究が行われてきたが、変異原性試験を始めるに先立ち、殺菌効果を確認し、殺菌剤としての毒性試験が実施されていることを除いてほとんどの実線照射による香辛料の成分変化がほとんど認められないことが報告されていることと、生物抽出法が確認されたいないことなどによる抽出法が思われる。これまで変異原性試験を実施する際の香辛料の成分抽出は有機溶媒による抽出が一般的であった。この抽出法は抽出濃縮が過剰な成分が散逸する等問題点があった。炭素を用いた超臨界流体抽出クロマトグラフによるコショウの香気成分抽出分析を試みその香気成分をほぼ完全に捕捉できることを報告していることから、抽出法によりγ線照射した香辛料の成分抽出を行い、その抽出物について変異原性試験を実施することとした。

香辛料は黒コショウをはじめとする5種を用い各々コバルト60で 1kGy、10kGy の照射を行った。抽出は日本分光工業(株)製の SUPER-200 を用い、抽出温度 40°C、圧力 200kg/cm²、液体二酸化炭素流量 9.0ml/min.、エントレーナーとしてエタノールを 5% 添加して行った。得られた抽出物はエタノールで溶解して試験に用いた。変異原性試験はサルモネラ TA100、TA98、TA102 を用い、プレインキュベーション法で実施した。その結果各々の香辛料はいずれも、照射のいかんにかかわらず強い抗菌性を示したが、変異原性は検出されなかった。

P-25

市販染毛剤の S. typhimurium TA98 に対する変異原性

○渡辺徹志、平山晃久、福井昭三
(京都薬大)

演者はこれまで染毛剤原料9種を含む13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を行い、H₂O₂ 処理により変異原活性の著しく上昇した PD 類ではいずれも主変異原物質として phenazine(Pz) 類が生成し、m-PD から強変異原物質である 2,7-diNH₂-Pz (TA98 730 rev./ng) が生成することを報告した。今回、市販染毛剤を実際に使用する条件で H₂O₂ 処理し、処理物の変異原性ならびに m-PD を含む製品の H₂O₂ 処理による 2,7-diNH₂-Pz の生成について検討した。酸化染料剤(第1剤)及び酸化剤(第2剤)よりなるシャンプー式の染毛剤4種を用いた。酸化染料剤を同量の 6% H₂O₂ と混合し、30分後 DMSO で希釈して変異原性試験の試料とした。また、別に酸化染料剤を H₂O₂ で同様に酸化後 blue rayon 抽出を行い抽出物についても変異原性試験を行った。H₂O₂ 処理した染毛剤を直接希釈して試験する方法では2種の染毛剤で 2.5 μl/plate において復帰変異コロニーが生じたが試料の殺菌効果のため明らかな dose response は認められなかった。一方、blue rayon 抽出物はいずれも S9 mix 存在下において変異原性を示し、m-PD を成分として含む染毛剤抽出物のみが顕著な変異原性を示し染毛剤 10 μl 当たり 334 rev. 及び 999 rev. を生じた。また、m-PD を含む染毛剤(40 ml) の H₂O₂ 処理物から 2,7-diNH₂-Pz 88 ng 及び 249 ng が検出された。

P-26

ヒト尿中のハルマン及びノルハルマンの検出

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

Comutagen であるハルマン及びノルハルマンは、加熱食品やタバコの煙中等に含まれている。またハルマンはマウスに対して発がん性を示す。これら β-カルボリン化合物のヒトに対する曝露量を推定する目的で、ヒト尿中のハルマン及びノルハルマンの存在量の分析を行った。

試料としては健康な男女10例及び、輸液による栄養補給を受けている絶食中の患者7例の24時間尿を用いた。尿中のハルマン及びノルハルマンは、ブルーコットン及び陽イオン交換樹脂カラムで分離精製した後、蛍光検出器を用いた HPLC で分析した。

ハルマン及びノルハルマンは、すべての健康人の尿サンプルより検出された。24時間尿当たりの量は、ハルマンが 97.7~259 ng、ノルハルマンが 9.3~33.5 ng であった。一方これら β-カルボリン化合物は、絶食中の患者のすべての尿サンプルからも検出され、それらの24時間当たりの量は、ハルマンが 32.2~328ng、ノルハルマンが 8.6~40.6ng であった。このことは、これら β-カルボリン化合物は生体内でも生成することを示唆するものである。

以上のようにヒトは常にハルマン及びノルハルマンに曝露されていることがわかった。現在、ハルマン及びノルハルマンの摂取量及び尿中への未変化体の排泄量について分析を行っている。

P-27

ニトロ還元酵素遺伝子の導入によるニトロアレーンの高感度変異原検出系

○小田美光¹, 渡辺雅彦², 能美健彦², 石館基² (¹大阪府立公衛研, ²国立衛試)

ニトロ還元酵素 (NRase) は, ニトロアレーンを代謝活性化する酵素としてよく知られている。今回, 我々は NRase 遺伝子をサルモネラに導入して新しい菌株を作成し, この菌株と umu テスト 試験菌株 TA1535/pSK1002 および NRase を欠損した菌株 NM1003 を用いて, ニトロアレーンの umu 遺伝子発現について検討した。

pYG220 の NRase 高産生 BamHI フラグメントをベクター pACYC184 の BamHI 部位にライゲーションで挿入して, キメラプラスミド pNM11 (CM^R) を構築した。このプラスミドを TA1535/pSK1002 に形質転換させて菌株 NM1011 を作成した。ニトロアレーンは, 4 種類のニトロピレン (NP), 2-ニトロフルオレン (2-NF), 2-ニトロナフタレン (2-NN), 1-ニトロナフタレン (1-NN), m-ジニトロベンゼン (m-DNB), AF-2, ニトロフラゾン (NF), 4-NQO を用いて試験を行った。

NM1011 株は, 2-NF, 1-NN, 2-NN, 1-NP, m-DNB に対して高い感受性を示し, TA1535/pSK1002 株の 2~7 倍高い値を示した。一方, NM1011 株と TA1535/pSK1002 株に対して AF-2, 1, 3-DNP, 1, 6-DNP, 1, 8-DNP, NF, 4-NQO は, ほぼ同じ感受性を示した。また, NM1003 株は 2-NF, m-DNB, 1-NN, 2-NN に対して陰性反応を示した。これらの化合物は, NRase によって活性化される変異原物質であることを示唆している。

以上の結果から, NRase 高産生プラスミド遺伝子を導入した試験菌株は, ニトロアレーン類の変異原物質の検索に有用であると考えられる。

P-28

umu テストにおける除去修復機構の影響

○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 安全性研)

(目的)

SOS 反応は DNA の損傷によって誘導される DNA 修復機構の 1 つであり, *uvr* 遺伝子を中心とした除去修復や *umu* 遺伝子を中心とした誤りがち修復などが *recA* 遺伝子によって制御されている。一般的に修復エラーの少ない除去修復の誘導が修復エラーの多い誤りがち修復よりも先に誘導されることが知られており, *umuDC* 遺伝子の誘導で変異原物質を検出する umu テストでは検出感度を高めるために除去修復欠損株 (*uvrB*⁻) が用いられている。しかし, クロスリンク剤の一つである mitomycin C では除去修復能の存在により *umuDC* 遺伝子の誘導が高められることが報告されており, 除去修復能の存在がすべての化学物質において umu テストの検出感度を低下させているとは断定できない。

今回, 種々の化学物質において除去修復欠損株 (TA1535/pSK1002) と野性株 (TA2655/pSK1002) を用いて umu テストを行い, その検出感度を比較した。

(実験方法および結果)

化学物質として 2-AA, 2-AF, aflatoxin B₁, DEN, DMN, AF-2, MMC, MNNG, nitrofurantoin, nitrofurazone, 5-nitro-2-furanacrolein, 4-NQO, などを使用し, umu テストの原法に若干の改良を加えた方法でスクリーニングを行った。その結果, 2-AA, 2-AF, aflatoxin B₁, AF-2 では TA1535/pSK1002 が TA2655/pSK1002 に比べて低濃度で陽性結果が得られた。一方, DEN, DMN, nitrofurantoin, nitrofurazone, 5-nitro-2-furanacrolein では TA1535/pSK1002 と TA2655/pSK1002 は殆ど同程度の検出力であり, MMC, MNNG, 4-NQO では高濃度において TA2655/pSK1002 の方が高い活性値を示した。

これらのことから, 幾つかの化合物では除去修復能の存在は umu テストの検出感度に影響しないということが示唆された。

P-29

変異原による DNA 損傷と活性酸素 I
—H₂O₂ と・O₂—

○小野哲義, 布柴達男, 西岡 一 (同志社大 生化学研)

活性酸素の生体内における重要な役割が明らかとなっている。また発がん物質や変異原の作用機構においても, 求核的イオン反応の他に, フリーラジカルやそれに共役した活性酸素が大きな関わりをもつことが知られてきた。我々はこれまでに大腸菌を用いて, H₂O₂ が ① DNA を損傷し, *recA* 遺伝子を誘発する, ② WP2*uvrA*/pKM101 を用いた Streptomycin 5γ 耐性変異試験で明瞭な陽性を示す, ③ 低濃度前処理により, 高濃度 H₂O₂ や Formaldehyde に対して著しい抵抗性を獲得することなどを見だし報告してきた。

今回は, H₂O₂ 以外の活性酸素の DNA 損傷やその修復機構を明らかにするために, 活性酸素の防御系の大腸菌各種欠損株を用い, ・O₂⁻ 増産剤 (methyl viologen; MV) を増殖条件下で処理し, その生存率を H₂O₂ の場合と比較検討した。その結果, ① *recA* 変異株, *xth nfo* 二重変異株, *katGE* 変異株は, いずれも H₂O₂ に対して感受性を示し, その程度は, *recA* 変異株 ≒ *xth nfo* 二重変異株 > *katGE* 変異株 > 野性株であった。② MV に対しては, *xth nfo* 二重変異株は高い感受性を示したが, 他の株はいずれも野性株と同程度であった。H₂O₂ は, Fenton 反応や Harber-Weiss 反応によって, ・OH となり, DNA 鎖切断や塩基損傷や脱塩基などを生ずると考えられている。一方, ・O₂⁻ は, SOD により H₂O₂ となり, 最終的に ・OH となると考えられる。よって *katGE* 株が MV に対して全く感受性を示さないのは興味深い。この結果は, ・O₂⁻ が H₂O₂ とは独立に DNA を損傷するか, または *katGE* 以外の H₂O₂ 消去系が誘導されることを示唆している。

P-30

変異原による DNA 損傷と活性酸素 II
—セレン化合物—

○平津圭一郎, 布柴達男, 西岡 一 (同志社大学, 生化学研)

発がんにおける各種フリーラジカルの関与が注目され, ある種の変異原や発がん物質の作用機構には, 求核的イオン反応の他にもフリーラジカルやそれに共役した活性酸素が関与することが証明されている。また最近, 各種金属化合物がフリーラジカルを生成することが ESR により示され, 金属化合物による DNA 損傷に活性酸素が関わる可能性が考えられる。

一方我々は, 金属化合物の変異原性や抗変異原性などを検討してきたが, 特にセレン化合物については, ① DNA 損傷性があること, ② UV, 4NQO, AF-2, MNNG 誘発突然変異を抑制し, その機構の一部に *umuC* 遺伝子の発現の阻害があること, ③ 大腸菌を低濃度の亜セレン酸ナトリウム (SSe) で前処理すると, MNNG に対して抵抗性を示し, それが glutathione peroxide の誘導による細胞中 GSH 量の減少に起因することなどを報告している。そこで今回は, セレン化合物の DNA 損傷への活性酸素の関与について検討した。

大腸菌の各種 H₂O₂ 感受性株を用い, 増殖条件, 非増殖条件で SSe を処理し, 生存率を求めた結果, 非増殖条件では *xth nfo* 二重変異株が極めて強い SSe 感受性を示したが, *xth* 変異株は逆に野性株より抵抗性を示した。類似の結果が, ・O₂⁻ 増産剤 plumbagin でも観察された。一方増殖条件では, 野性株 < *xth* < *xth nfo* の順に高い感受性を示した。また低濃度 methyl viologen 前処理により, SSe に対して抵抗性を獲得した。この抵抗性獲得が如何なる機構によるかは現在検討中である。以上の結果は, SSe による DNA 損傷に活性酸素が関与する可能性を強く示唆している。

P-31

変異原によるDNA損傷と活性酸素 III
—フォトダイナミック作用—○倉岡 功、川上国彦、布柴達男、西岡 一
(同志社大・生化)

化学物質の細胞や生体に対する作用の中で、活性酸素が重要な役割を果たしていることが次第に明らかとなってきた。また物質の発がん性や変異原性が活性酸素の生成に由来する例も報告されるようになってきた。

我々はこれまでに、大腸菌の修復変異株や活性酸素防御系欠損株を用いて、 H_2O_2 、methyl viologen, 金属化合物などに対する感受性を調べ、活性酸素の関与について検討してきた。本報告では、フォトダイナミック(PD)作用における活性酸素の関与について検討し、得られた結果について報告する。

PD作用は、可視光線を吸収する色素分子などがDNA分子にインターカレートして、光のエネルギーを伝達し、細胞を致死や突然変異に導く現象である。この作用には酸素が必要であり、フリーラジカルの関与が推定されてきた。

今回の実験には色素として、アクリジンオレンジ(AO)などを使用し、微生物細胞として、大腸菌の野性株の他、*recA*、*katGE*および*oxyR*などの変異株、それに*xth nfo*の二重変異株などの活性酸素感受性株が使用された。

それぞれの細胞は各濃度のAO存在下で、適当な生存率を導く光量で白色蛍光灯で照射され、生存曲線が求められた。この結果、特に*xth nfo*の二重変異株が強い感受性を示した。この結果は、PD作用には活性酸素が関与していることを示唆している。

合成着色料として食品に使用されている一連のタール系色素についても実験を行い、これらの結果についても報告する。

P-32

Chlorambucil の *Salmonella typhimurium* に対する欠失突然変異誘発能○山田雅巳、能美健彦、祖父尼俊雄
(国立衛試・変異遺伝)

SOS 修復に代表される点突然変異を起こす機構に比べ、欠失突然変異を誘発する機構には不明な点が多い。この原因の一つは、効率よく特異的に欠失突然変異を誘発する化学変異原が未だ見出だされていないことにあると思われる。最近、化学療法剤である chlorambucil が、マウスの生殖細胞に高頻度で欠失変異を誘発すると報告された¹⁾。そこで我々は、chlorambucil が bacteria にも欠失突然変異を誘発するか否かを *S. typhimurium* TA100, TA1535, TA 98, TA97, 及び TA102 株を用いて調べた。

Chlorambucil は、S9 mix の存在下では、TA100 及び TA1535 株に変異原性を示したが、S9 mix 非存在下では TA102 株にのみ変異原性を示した。TA102 は *hisG428* 変異部位付近に起きる短い欠失を検出することができ、この欠失突然変異体 (*His*⁺) は thiazole alanine を含む最少培地上で生育できるため、サブレッサー変異や、塩基対置換による、復帰突然変異体 (*His*⁺) と区別することができる。

S9 mix 非存在下で chlorambucil により誘発された TA102 の *His*⁺ 株について thiazole alanine 感受性を調べ、耐性株から *hisG428* を持つプラスミド pAQ1 を分離精製すれば、塩基配列を解析できる。その結果から、欠失突然変異の hot spot を調べた。

1) L. B. Russell et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86, 3704-3708 (1989)

P-33

Salmonella typhimurium guanine phosphoribosyltransferase 遺伝子のクローニング及びその塩基配列○松井道子、能美健彦、祖父尼俊雄
(国立衛試・変異遺伝)

8-Azaguanine (8-AG) の耐性を指標とする前進突然変異試験は、1つの指標菌株 (*S. typhimurium* TM677) で塩基置換、フレームシフトと共に欠失変異をも検出することが可能である。この試験はプリン生合成に関与する guanine phosphoribosyltransferase の遺伝子 (*gpt*) に変異が起きると 8-AG 耐性となることを利用している。PCR 法を用いて 8-AG 耐性となった TM677 株の *gpt* 遺伝子を増幅させれば変異原によって誘発される突然変異の特徴を分子レベルで容易に明らかにすることが可能になる。

今回、PCR 法を行う第1段階として *S. typhimurium* より *gpt* 遺伝子のクローニングを行いその塩基配列を調べた。pBR322を用いて作った TA1538株の遺伝子ライブラリーを *S. typhimurium* AB47 (*proAB*⁻, *gpt*⁻) に導入し、8-AG 感受性、プロリン非要求性の形質転換株を単離した。この株からプラスミドを抽出し、*gpt* 遺伝子を含む *Pst*I 断片 (3.4kb) のあることを確認した。*Hinc*II による部分分解を行い、*gpt* 遺伝子は *Hinc*II-*Pst*I 部位にはさまれた 1.15kb 領域にあることを明らかにした。現在 *gpt* 遺伝子の塩基配列を解析中である。

P-34

Salmonella typhimurium O⁶-メチルグアニン DNA メチル転移酵素遺伝子のクローニング及びその塩基配列○羽倉昌志¹、能美健彦¹、森本和滋²、
祖父尼俊雄¹
(国立衛試・¹変異遺伝、²化学物質情報)

Ames 試験に使われる *S. typhimurium* は、O⁶-メチルグアニン DNA メチル転移酵素 (MTase) 活性を持っている。しかし、その発現は大腸菌とは異なり、低濃度メチル化剤処理で誘導がならず、constitutive である。我々は、*S. typhimurium* の MTase の特性をより深く理解するために、本酵素の遺伝子を *S. typhimurium* TA1538 からクローニングし、その塩基配列を決定した。その結果、推定 352 個のアミノ酸からなる蛋白をコードしているオープン・リーディング・フレームが見い出され、この遺伝子産物 (分子量 39 kDa) は Maxi Cell 法により同定された。*S. typhimurium* の MTase は大腸菌の誘導型 Ada とアミノ酸レベルで 75 % の相同性を示し、メチル基受容部位である Ada の Cys69、Cys321 に対応する位置に Cys 残基を持つほか、Ada の蛋白分解酵素による切断部位 (Lys-Gln) に対応する位置に同じアミノ酸配列を持っていた。さらに、プロモーター領域には、Ada 蛋白の誘導に必要な Ada Box とホモロジーの高い塩基配列が見い出された。現在、クローニングした *S. typhimurium* の MTase 遺伝子の発現が、低濃度メチル化剤処理により誘導がかかるか否かを検討している。また、クローニングした MTase 遺伝子を用いてメチル化剤に抵抗性あるいは高感受性を示す変異原性試験用サルモネラ菌株の開発を行っている。

P-35

変異原物質高感受性を示す培養細胞株の分離、特性確認-2、変異原感受性のメカニズムについての検討-

○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）

筆者らは前回（第18回）大会において、各種の変異原に対し、高い感受性を示す細胞（TR47/20-1）を分離したことを報告した。この細胞は紫外線（UV）やマイトマイシンC（MMC）に対し高い感受性を示すほかに、6チオグアニン耐性の表現形質において高い突然変異率を示す等のユニークな性質を持っているが、筆者らは、この細胞の持つ性質のうち、薬物に対する感受性に注目し、UV、MMCに対する高感受性が同じメカニズムによって起こっているかどうかを確認する実験を行った。まずMMC、UV各々の性質が親細胞であるDon D-6と同等になった復帰変異株をそれぞれ独立に分離した（MMCに対する感受性が復帰したものを20-1R1、UVに対する感受性が復帰したものを20-1R2と名付けた）。次にこの20-1R1、20-1R2についてもう一方の変異原（20-1R1におけるUV、20-1R2におけるMMC）に対する感受性を調べた。その結果、いずれの細胞においても感受性は元のTR47/20-1と同等であった。20-1R1については細胞膜の透過性の変化による抵抗性獲得の可能性が懸念されたため、コルヒチンを用いて感受性試験を行った結果、TR47/20-1と同じままであることが確認された。以上の結果から、TR47/20-1のUV、MMCに対する感受性は異なるメカニズムによって生じている可能性が示唆された。

P-36

M13mp2ファージを用いた太陽光の突然変異誘発作用の研究

○根岸和雄（岡山大・遺伝子実験施設）

太陽光が発がん作用、突然変異誘発作用を持つことはよく知られている。しかし、そのスペクトルの広さから、その遺伝子損傷作用の詳細は明らかになっていない。そこで、太陽光の突然変異誘発作用をM13mp2ファージのlacZα領域を用いてシーケンズレベルで解析することを計画した。

M9緩衝液に懸濁したM13mp2ファージをシャーレに入れ、屋外で太陽光に曝した。その際シャーレは氷上に置いて温度の上昇を防いだ。照射後希釈し、大腸菌NR9099株（recA⁻）を指示菌として、IPTG、X-gal存在下ブランクを形成させた。M13mp2ファージの生存率は照射時間に比例して低下した。生存率が約1%となったところで変異頻度を測定した。変異体はブランクの色が青から無色、またはわず青になることで検出した。その結果、未処理のファージでは 1×10^{-4} の変異頻度だったものが、 8×10^{-4} まで上昇した。これは、太陽光がファージDNA上にmutagenicな傷を作ったことを示している。さらに、変異株3つを選び、変異箇所を調べたところ、1つの株にG→C、別の株にG→Tのトランスバージョンが観察された。

今後さらに、サンプル数を増やすとともにrec⁺菌での変異を調べたい。

P-37

細胞間代謝協同阻害試験における発癌プロモーターの検出

○岩瀬裕美子、加藤和子、武田祐子、吉川邦衛（三菱化成株式会社総合研究所 第二研究部門 安全性研究所）

【目的】細胞間代謝協同阻害試験は、比較的広範囲の発癌プロモーターの検出に有効であることが知られている。我々は、既知発癌プロモーターまたはプロモーター作用があるものと考えられている19種の化学物質について本試験を行った。

【方法】V79[6-thioguanine(6TG)感受性]細胞およびT2-14(6TG耐性)細胞をφ60mmのdishにそれぞれ 4×10^5 個および200個播き、4時間前培養したのち、6TGおよび化学物質を含む培養液で3日間処理を行った。さらに6TGのみを含む培養液で4日間培養し、コロニー数を計測した。また水溶性の化学物質については、培養液中の浸透圧も測定した。

【結果】19種中12種(benzoyl peroxide, BHA, catechol, clofibrate, DEHP, 17-α-ethinylestradiol, lithocholic acid, methoxychlor, PBB, phenobarbital sodium, TPA, tween 60)が陽性、7種(anthralin, BHT, caffeine, deoxycholic acid, sodium chloride, hydrogen peroxide, saccharin sodium)が陰性であった。

本試験は、実験条件が結果に影響することが知られている。Anthralin, BHT, deoxycholic acid, saccharin sodiumは、Troskoraは陽性と報告しているが、本実験条件下ではいずれも陰性であった。Caffeine, sodium chloride, saccharin sodiumについては、高浸透圧の条件下でもコロニー数の増加はみられなかったことから、細胞間コミュニケーション作用に対する浸透圧の影響は少ないものと示唆された。発癌プロモーターは、二段階発癌実験で陽性のもの、non-mutagenic carcinogenといわれる化学物質などの中から選択したが、本試験ではその検出率は63%であった。

P-38

ポリADP-リボース合成酵素阻害剤ベンズアミドによるジアミノプリン抵抗性突然変異の誘発

○法喜ゆう子、藤森 亮、巽 紘一（京大・医）

2、8ジハイドロキシアデニン結石症保因者に由来するリンパ芽球様細胞WR10を用いて、アデニン・フォスホリボシルトランスフェラーゼ座位におけるaprt⁺→⁻の遺伝子突然変異を定量的に検出するジアミノプリン抵抗性(DAP^r)変異試験を開発し、自発変異頻度が6チオグアニン抵抗性(TG^r)指標と比較して約10倍高いことを見出ししてきた。

ポリADP-リボース合成酵素阻害剤のベンズアミドには姉妹染色分体交換(SCE)と染色体異常の誘発作用が知られているが、6チオグアニン抵抗性やウアバイン抵抗性を指標とした遺伝子突然変異は誘発しないとされている。0~10mMのベンズアミドと37°C7日間持続的に接触させたWR10では用量に応じた増殖阻害が認められると共に、7.5mM以上で有意のDAP^r頻度の上昇が見られた。生存率の低下に比べ、DAP^r頻度の上昇は10mMでも $0.7 \times 10^{-5} \rightarrow 5 \times 10^{-5}$ と小さいが、DAP^rがベンズアミド致死感受性に関連していないことを確認し、頻度上昇が選択である可能性は除外できた。ポリADP-リボース合成酵素阻害剤にはハムスター細胞の形態的トランスフォーメーション誘発や、逆に活性化H-ras導入NIH3T3細胞のフラット・リバージョンおよび、HL60の分化誘導が報じられている。これらの機構としてのゲノム変化を考えると、突然変異も除外されるべきでないことが、常染色体上のaprt座位変異試験の結果から示唆された。

P-39 コーヒーの化学発光と一重項酸素の発生

○加藤哲太、中井 輝、菊川清見
(東京薬大)

コーヒーの発癌性について、いくつかの要因が示唆されている。今回、我々はコーヒーは他の食品に比して極めて強い化学発光を発生することを見出し、その原因はメーラード反応による一重項酸素の生成と関連があることを示唆する知見を得たので報告する。

化学発光はルミカウンター1000を用い、測定セルの温度を37°Cとして、セル内サンプルの発するフォトンの10分間の積算値を求めた。加熱ばい煎して製した紅茶、玄米茶、ウーロン茶の温水抽出物にも化学発光が認められたが、コーヒー煎豆、インスタントコーヒーの温水抽出物、缶入りコーヒーの開缶直後のものには、極めて強い化学発光が認められた。インスタントコーヒーの場合、化学発光は1 mg/ml濃度まで濃度依存的に上昇し、溶液のpHが高いほど強かった。インスタントコーヒーの粉末をさらに加熱すると化学発光は上昇した。温水抽出物を脱酸素状態にすると化学発光が弱く化学発光には酸素が必要であることが分かった。コーヒー中に存在するフェノール性成分および発生する過酸化水素の化学発光に及ぼす影響を調べたが、これらの因子は化学発光に影響しないことが分かった。一方、メーラード反応による各種アミノ酸とブドウ糖の200°C、5分加熱物の温水抽出物は極めて強い化学発光を発生し、特に、Phe, Tyr, Trpが強かった。コーヒー及びメーラード反応による化学発光は、Sodium azide, Histidine, DABCOにより阻害され、コーヒーの発する化学発光はメーラード反応による一重項酸素の生成に起因するものと推定された。

P-40

MNNGにより誘発されるCHL細胞の極微弱発光について

○木村美佳¹, P. Roschger¹, 小林正樹¹,
稲場文男^{1,2}, 木村修一³ (1新技術事業団,
²東北大・電通研, ³東北大・農・栄養化学)

変異原性をもつ芳香族炭化水素は、その代謝にともない極微弱発光を生じることが、長田らによって報告されている。

今回、我々は、CHL細胞を用いて、MNNGによる極微弱発光の検出を試みた。測定は、37°C 5%CO₂の条件下で、光電子増倍管を用い、Single photon counting法により行った。

培養4-5日めのCHL細胞にMNNGを添加すると、極微弱発光を生じる。この発光は、濃度依存性であり、また、N₂ガスの置換により消光することから、O₂依存性であることが認められた。

また、1)培地にMNNGを添加しても発光がみられないこと、2)培地交換の直後のCHL細胞にMNNGを添加しても発光がみられないこと、3)数日間培養した後の培地にMNNGを添加すると発光がみられることから、これらの極微弱発光は、CHLに由来する代謝物と、MNNGの反応によるものと推測される。さらに、SODによる抑制効果が認められ、活性酸素種が関連している可能性が示唆された。

P-41

マウス糞便における極微弱発光の日内リズムと老化の影響

○菱沼宏哉¹, 細野 朗², 木村修一²,
稲場文男^{1,3} (1新技術事業団, ²東北大・農,
³東北大・電通研)

【目的】化学発癌物質の多くがその代謝過程で活性酸素種を生成することや、過酸化物や活性酸素種が強い変異原性・発癌性をもつことはよく知られた事実である。今回、過酸化物や活性酸素種の存在の指標となる極微弱発光をマウス糞便希釈懸濁液より検出し、極微弱発光強度の日内変動およびそれに及ぼす老化の影響について検討した。【方法】若齢マウス(7週齢)、成熟マウス(26週齢)、老齢マウス(78週齢)の摂食量、排便量、糞の水分含量、糞便希釈懸濁液の極微弱発光強度を経時的に測定して、日内変動を追跡した。

【結果】①摂食量、排便量、糞の水分含量、糞便希釈懸濁液の極微弱発光強度に明らかな日内リズムの存在が認められた。②摂食、排便量、糞の極微弱発光強度の日内リズムは、加齢に伴って乱れてくることが示された。③糞の極微弱発光強度は、加齢に伴って減少することが明らかとなった。【考察】加齢や担癌に伴って血液や臓器の極微弱発光強度が強くなることはよく知られた事実であるが、今回の結果および無菌動物等の糞便を用いた実験結果から、糞便の呈する極微弱発光は老化や癌の指標とはなりにくいことが示された。また、摂食リズムを昼夜反転させることにより糞の極微弱発光強度の日内リズムも昼夜反転したことから、糞の極微弱発光は食物そのものおよび食物摂取に伴う胆汁酸や腸内細菌の変動に由来するものであると考えられた。

P-42

日周リズムの変化にともなうマウス肺腫瘍の増殖促進

○中島裕夫、前田 博、松浦哲郎、尾寄清和、奈良間 功(摂南大 安全研)

明暗の周期によって作り出される日周リズムは、生物の生体維持にとって基本的かつ重要な環境要因である。日周リズムの変化によりホルモンの分泌、体温、行動などのリズムに変化が起ることは哺乳動物でもよく知られている。そこで、明暗による日周リズムのサイクルを短縮化する環境要因のみで発癌過程に変化が起きるかどうかが、また発癌の検出時期を早めることが可能かどうかの検討を試みた。

【方法】明暗サイクルを6時間照明-6時間消灯(以下6L6D)と12時間照明-12時間消灯(以下12L12D)に設定したそれぞれの飼育室でUrethaneをCrj:ICRマウスに単回皮下投与して1ヶ月間および3ヶ月間飼育した。

それぞれの飼育期間終了後、野村(1982)による発癌の定量法をもとに、各個体別に発生した肺腫瘍の数および直径を測定した。

【結果】個体当りの平均腫瘍発生数は、投与後1ヶ月の6L6Dで3.3であり、12L12Dの1.5に対して有意(P<0.05)に多く認められたが、投与後3ヶ月では6L6Dで8.1、12L12Dで6.2と差はなかった。しかし発生腫瘍の平均直径(mm)は、投与後1ヶ月の6L6Dで0.518、12L12Dで0.434(P<0.05)、投与後3ヶ月では6L6Dで0.757、12L12Dで0.624(P<0.01)となり、時間とともに6L6Dの平均腫瘍直径が12L12Dよりも大きくなることが認められた。

このことから明暗サイクルの短縮化により肺腫瘍増殖の促進が示唆され、腫瘍発現検出の短期化への応用の可能性も考えられた。

P-43 ロテノンによる Endoreduplicationの誘発とその誘導時期について

○松元郷六、太田敏博、白須泰彦（残留農業研究所）

ロテノンは古くから使用されている天然殺虫剤である。その Mutagenicity については UDS 試験および Ames 試験でマイナスである事が既に報告されているが、Clastogenicity については不明であった。そこで、ロテノンによる染色体異常誘発性について CHL-24（染色体数24のクローン）細胞を用いて詳細に検討したところ、構造的異常は認められなかったが、異数体および倍数体の他、数的異常としては稀である Endoreduplication (ER) が高頻度に観察された。

ER という現象は、細胞周期の G2 期にある細胞が何らかの作用を受けることにより、M 期および G1 期が省かれ、続けて S 期へ進む事によって起こるものとされている。今回ロテノンによる ER 誘発について調べたところ、ER の誘導は M 期において引き起こされている可能性を見出したので報告する。

TN-16（同調試薬）で M 期中期に同調させた CHL-24 細胞にロテノンを 10 μg/ml で 2 時間作用させ、30 時間後に標本作製したところ、極めて高頻度（分裂細胞中 24.3%）の ER が誘発された。一方、M 期の後期、終期から G1 期にかけてロテノンを作用させると ER の誘発性はすみやかに消滅した。さらに、ロテノン投与による細胞の形態変化を観察したところ、投与時に M 期中期の細胞は通常の細胞分裂が阻害され、染色体が染色分体に分かれることなく、一定時間経過した後、そのまま脱凝縮して間期核に戻っている様子が認められた。

以上の結果から、ロテノンによる ER 誘導の感受期は G2 期ではなく M 期中期であるものと考えられる。

P-44 1-Nitropyrene oxides の肝細胞/DNA 修復試験による遺伝毒性

杉江茂幸¹、奥村 中¹、森 秀樹¹、木内武美²、片岡佳子²、大西克成²（¹岐阜大・医・病理、²徳島大・医・細菌）

1-nitropyrene (1NP) は環境中に広く分布する高変異原物質であり、発癌性等のヒトへの影響に関して議論がなされている。1NP の生体内代謝には還元的代謝経路と酸化的代謝経路があるが、そのうち酸化的代謝経路が重要視され、DNA adduct の分析結果から 1NP の K-region epoxide である 1-nitropyrene 4,5-oxide (1-NP4,5-0x) 及び 1-nitropyrene 9,10-oxide (1-NP9,10-0x) の存在が注目されている。今回、これら 1NP の酸化的活性体を中心に初代培養肝細胞における遺伝毒性について不定期 DNA 合成を指標に検索した。

〔方法〕被検動物として雄 ACI/N ラットを用い、コラーゲナーゼ還流後初代培養ラジオオートグラフィーを用いた DNA 修復試験を行った。被検物質として、1NP、1-nitro 6-hydroxypyrene (1N6-P-OH)、1-nitro 8-hydroxypyrene (1N8-P-OH)、1-nitro 3-hydroxypyrene (1N3-P-OH)、1NP4,5-0x、1NP9,10-0x、Pyrene を検索した。

〔結果〕本試験では 1NP 自身は弱陽性であったが、1NP4,5-0x 及び 1NP9,10-0x 共に非常に強い遺伝毒性を示した。その他関連物質である 1N6-P-OH、1N8-P-OH、1N3-P-OH 及び Pyrene はいずれも陰性であった。

本試験の結果からも 1-nitropyrene oxides は造腫瘍性への関連において重要であることが示唆された。

P-45 環境変異原物質 1-ニトロピレンのマウス肝臓における DNA 付加体について

○木内武美、片岡佳子、大西克成（徳島大・医）

環境変異原物質 1-ニトロピレンは生体内では、まずニトロ基の還元かピレン環の酸化または両者によって代謝されるものと考えられる。還元反応での活性化体は、N-hydroxy-1-aminopyrene であり、その DNA adduct は N-(deoxyguanosin-8-yl)-1-aminopyrene である。一方、酸化的活性化体は、1-NP 4,5- および 9,10-oxide であり、この化合物は直接 DNA と反応する。また、Chinese hamster ovary cell にみられる 1-NP の変異原性はこれらの oxides によることが報告されている。さらに生体内でもこれらの oxides が肝臓で生成されていることは明らかである。また、無菌ラットでは、1-NP の代謝産物中に還元代謝産物が検出されないことから、肝臓ではニトロ還元反応はほとんど行われていないと考えられる。そこで、1-NP をマウス (B6C3F1、6 週令、雄) の腹腔内に投与し、肝臓より DNA を抽出し、DNA 付加体を ³²P-ポストラベル法で検出した。また 1-NP 4,5- および 9,10-oxide の投与実験も行いその DNA 付加体についても検討した。その結果、1-NP を投与したマウスの肝臓の DNA 付加体は、*in vitro* で作成した 1-NP 4,5- および 9,10-oxide の DNA 付加体と薄層プレート上でよく似た挙動を示した。また、還元付加体はほとんど検出されなかった。このことは、肝臓では 1-NP の還元反応はほとんど起こっておらず、酸化的に代謝活性化されることを示している。

P-46 1-nitropyrene oxides のシステイン抱合体の β-lyase による活性化

○片岡佳子、木内武美、大西克成（徳島大・医）

高変異原物質 1-nitropyrene (1-NP) は肝臓では主に酸化的に活性化され、1-NP oxides となり、DNA 付加体を形成する。1-NP oxides の解毒体であるグルタチオン抱合体は胆汁成分として腸管内に排泄され、主に胆汁によりシステイン (Cys) 抱合体に分解され、更に下部腸管で腸内菌の cysteine conjugate β-lyase の作用を受けて再吸収される。今回は、β-lyase を精製し、Cys 抱合体の変異原性が β-lyase によって増加することを明らかにし、その活性化の機構を検討した。

β-lyase は 1-NP oxides-Cys 抱合体分解活性の強い *Peptostreptococcus magnus* の菌体破壊後の 10⁵ x g 上清から、硫酸分画、DEAE-cellulose, hydroxyapatite, chromatofocusing, ゲル濾過により精製した。ネズミチフス菌に対する 1-NP 4,5-oxide-Cys 抱合体の変異原性は、β-lyase 添加により TA98 株のみ 1.6 倍に上昇した。1-NP 9,10-oxide-Cys 抱合体では、TA98 株、TA100 株共に 4 倍以上に上昇した。この変異原性の促進は β-lyase の阻害剤アミノオキシ酢酸により抑制された。これら Cys 抱合体の変異原性はニトロ還元酵素欠損変異株 TA98NR では著しく抑制された。Cys 抱合体の DNA 付加体形成量は、β-lyase およびニトロ還元酵素存在時に最高値を示した。以上より、1-NP oxides-Cys 抱合体の活性化への β-lyase およびニトロ還元酵素の関与が示唆された。

P-47 Menadione 及び H₂O₂ 耐性 CHL 細胞株を用いた BHA 代謝産物の毒性発現機構の解析

○鈴木孝昌¹, 松岡厚子¹, 沢田 稔², 林 真¹
宮田直樹³, 祖父尼俊雄¹ (¹国立衛試・変異遺伝, ²北大・薬, ³国立衛試・有機化学)

酸化防止剤である BHA は発癌性を有し、その活性発現には活性酸素種の関与が示唆されている。一方、当研究室では、活性酸素の生成が知られている menadione に対する耐性株として P-450 reductase 活性の低下した MM-1 株と、SOD 活性の高い MN-7 株を、さらに H₂O₂ 耐性株として、catalase 活性の上昇した R-8 株という3種の細胞株を CHL 細胞より樹立してきた。今回はこれらの細胞株を用い、BHA 代謝産物の毒性を比較することにより、活性酸素種の関与を検討した。

BHA 代謝産物のうち、tert-butylquinone (BQ) は BHA に比べて10倍以上強い細胞毒性を示したが、MM-1 株においては IC₅₀ 値が親株の約2倍となり、BQ に対する抵抗性がみられた。しかし、MN-7 株、R-8 株においては明かな差が見られなかった。この結果より、BQ は P-450 reductase によって1電子還元を受け、semiquinone radical 体になることにより毒性を発現すると考えられる。そしてこの際 O₂⁻, H₂O₂ といった活性酸素種の寄与は少ないものと推察される。さらに、GSH scavenger である diethyl maleate 処理によって BQ の毒性が増強されたことにより、活性種の解毒には GSH が関与していることが示唆された。

他の BHA 代謝産物の細胞毒性、及びこれらの化合物の染色体異常誘発性に関する各細胞の感受性の違いについても現在検討中である。

P-48 ラット肝 S9 による 3, 9-ジニトロフルオランテンの代謝

○中川 礼子・常盤 寛 (福岡県衛生公害センター)

ニトロアレンの一つであるジニトロフルオランテン (DNF) はジニトロピレンと同程度の変異原性を有することは既に明らかにされており、その毒性発現にはニトロ還元酵素及びO-エステル化酵素による代謝活性化を必要とすることがネズミチフス菌を用いた変異原性テストで予測されている。しかしほ乳動物における代謝活性化についてはまだ調べられていない。そこで今回、アロクロール 1254 処理したラット肝 S9 による嫌気性下での代謝実験を行い、その生成物の同定を試みた。その結果2種の主代謝物が得られ、それぞれ3-アミノ-9-ニトロフルオランテン (3A9NF)、ジアミノフルオランテンであることが MS, NMR 及び蛍光スペクトラムから同定できた。また S9 をマイクロゾーム及びサイトゾール画分に分離し、NADPH (又は NADH) の存在下、好気性下 (又は嫌気性下) における 3A9NF の生成量を、基質を1-ニトロピレン、3-ニトロフルオランテンとした時のアミノ体の生成量と比較した。その結果、3,9-DNF が他の2種のモノニトロアレンよりも容易に還元されることがわかった。

P-49 化学的酸化モデル系による N-ニトロソジアルキルアミンの代謝活性化と変異原性発現

○大河内江里子、石村志保、霜田恵子、望月正隆 (共立薬大)

【目的】N-ニトロソジアルキルアミンは代謝活性化されて変異原性を示す。これらの活性化反応についての代表的な化学的酸化モデル反応系による変異原性発現とその機構について検討した。

【実験】モデル酸化系として鉄塩と銅塩を含む Fenton 試薬、およびテトラフェニルポルフィリン鉄錯体-酸化剤を用いて、N-ニトロソジアルキルアミンを活性化させて、反応生成物を検討するとともに、サルモネラ TA1535 と大腸菌 WP2 および WP2 hcr⁻ に対する変異原性を検定した。

【結果と考察】Fenton 試薬は N-ニトロソ化合物を活性化して変異原性を発現させ、島田らの過酸化水素-鉄塩による結果 (島田、菊一、早津、本大会第15回) と一致した。この活性発現の検定条件と2種の菌株における相対的な活性の強さの比較から、安定な反応生成物 (岡田ら、未発表データ) が主な変異原であると推定した。金属ポルフィリンモデルであるテトラフェニルポルフィリン鉄とヒドロペルオキシドの存在下でも突然変異が検出され、その強さはこれらの系で代謝されて生成するアルデヒドの量と同一の傾向で、 α -水酸化が主な活性化経路と考えられた。

【結論】N-ニトロソジアルキルアミンはシトクロム P-450 モデル系の鉄ポルフィリン-酸化剤の系では α -水酸化により活性化され、Fenton 系では安定な活性体を経て変異原性を発現した。

P-50 1,2-dimethylhydrazine (DMH) によるラット大腸粘膜細胞の DNA 損傷 (Ⅲ) 絶食等による影響

○蜂谷紀之、権 太浩、滝澤行雄 (秋田大・医)

【目的】短期動物試験などにおいて動物の絶食は試験結果に各種の影響を与えることが知られている。大腸粘膜上皮細胞においても、DMH の DNA 損傷誘起性などについて同様の効果が認められたため、その作用について検討した。

【方法】DMH を注腸投与したラット (F344) から適当な時間に結腸粘膜上皮組織を摘出しその粗核分画についてのアルカリ溶出法によって鎖切断部位 (溶出 pH 12.1) とアルカリ感受性部位 (溶出 pH 12.6) を測定した。さらにその組織片の in vitro での ³H-thymidine の取込活性などを測定して、総 DNA 合成活性、不定期 DNA 合成 (UDS) 活性、複製 DNA 合成活性を求めた。

【結果】消化管の DNA 合成活性は絶食によって影響を受けることが知られているが、結腸上皮においても同様の効果が認められ、絶食のほか食餌中の繊維質含量などもこれに影響した。さらに、DMH 100 mg/kg を投与して6時間後の同組織について、DNA 損傷を測定すると、このうち DNA 鎖切断の程度は DMH 投与前の絶食状況によって明らかに異なり、通常食群 < 24時間絶食群 < 48時間絶食群、の順に大きくなった。しかしながら、アルカリ感受性部位としての損傷ではこの絶食の効果は認められなかった。結腸上皮の DNA 損傷形成と修復に及ぼす食餌摂取の影響を考察する。

P-51

食品添加物のLiquid Rec-assayにおける反応時間の影響

○野中美智子(九州大・農)

生体内に取り込まれた化学物質は吸収、分布、代謝、排泄という多くの過程を経て異物処理される。これらの過程で、化学物質は生体に好ましくない影響を残す場合があり、その結果毒性が発現する。その毒性は一般的に毒性発現物質の標的臓器内濃度とその物質に接触する時間との積値に係る(上満, 1986)。そこで、数種類の食品添加物について、枯草菌との接触時間を30分あるいは1日に設定してLiquid Rec-assayを行なった。

液体ブロスでH17Rec+およびM45Rec-株を一夜培養して定常期の細胞を調製し、12.5%のグリセリンを加えて-80°Cに保存したものを、新鮮ブロスで前者は200倍、後者は100倍に希釈した(菌液)。96穴マイクロプレートの各穴に適当な濃度の試料溶液100 μ l および菌液100 μ l を入れ、37°Cで、30分あるいは24時間保温した。30分反応の場合、この反応混合物を 2^{-8} ~ 2^{-10} に希釈してブロス寒天培地に播いた。37°Cで40時間培養して生残コロニー数を計測し、生存率を算出した。1日反応の場合、簡便のため、反応混合物の濁度(OD₆₂₀)をマイクロプレートリーダーで測定し、試料を含まない溶媒コントロールに対する相対濁度(生存%)を算出した。

その結果、アスコルビン酸、安息香酸ナトリウム、デヒドロ酢酸ナトリウム、過酸化水素などは、30分反応および1日反応のLiquid Rec-assayにおいて陽性であった。R50値(生存率50%におけるRec+とRec-の試料濃度の比)は、30分反応より1日反応が若干大きい傾向であった。さらに反応時間を考慮した評価方法が必要と思われる。

P-52

アルキル化剤検出能に関する β -ガラクトシダーゼassay法とmutation assay法の相関

○大塚雅則、岡田真理、稲井恒彦、森永範子(財団法人化学品検査協会 日田研究所)

Methyl methanesulfonate, Ethyl methane-sulfonate, Dimethyl sulfate, Diethyl sulfate, N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine, N-Ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine, Methyl nitrosourea, Ethyl nitrosourea の8種類のアルキル化剤に関して *umuC'*-*lacZ'* 及び *alkA'*-*lacZ'* の誘導を調べ各アルキル化剤のこれら二つの修復遺伝子に対する誘導活性(U/umole/ml)をすでに報告した(大塚ら, 1985)。

今回我々は、これらのアルキル化剤を用いて *S. typhimurium* TA100 に対する突然変異誘発活性(U/ug/plate)を求め、両者の相関を調べた。最小二乗法による回帰分析の結果 *umuC'*-*lacZ'* の誘導活性と突然変異誘発活性との相関係数は0.9204 (Sig. P<0.01)であったのに対して、*alkA'*-*lacZ'* の誘導活性と突然変異誘発活性との相関係数は0.9916 (Sig. P<0.001) とより高いものであった。

アルキル化剤に関しては、*alkA'*-*lacZ'* または *umuC'*-*lacZ'* のいずれのassay系も、*Salmonella* reverse mutation assayの結果と高い相関がある事が明らかになった。

P-53

ヒスチジンを含むペプチドのAmes試験に対する影響

○若田明裕, 山下智子, 玉起美恵子, 大島稔彦(山之内製薬 安全研)

Ames試験はヒスチジン要求性のサルモネラ菌が非要求性に復帰変異することを指標とし物質の変異原性を検出する系である。このためこの系ではヒスチジンの存在が試験に影響を与える。実際、ヒスチジン量を増していくとヒスチジン要求性菌が増殖し復帰変異菌数が増加する。そこで今回、ヒスチジンを含むpeptideの影響を検討した。

Ala-His, His-Ala, β -Ala-His (dipeptide), Gly-His-Gly, Gly-His-Lys, pGlu-His-Pro-NH₂, pGlu-His-Gly, pGlu-His-Gly-NH₂, α -Asp-His-Pro-NH₂, β -Asp-His-Pro-NH₂ (tripeptide), Gly-His-Arg-Pro (tetrapeptide)を用いた。

その結果、全てのdipeptide, Gly-His-Gly, Gly-His-Lys, α -Asp-His-Pro-NH₂ および Gly-His-Arg-Proはヒスチジン要求性菌を過剰増殖させ、復帰変異菌数を増加させた。この結果よりこれらのpeptideはヒスチジンとして利用されることが分かった。サルモネラ菌は種々のpeptidaseを持っているため、今回ヒスチジンとして利用されたpeptideはこれらのpeptidaseによってヒスチジンにまで分解され利用されたと考えられた。しかし、その他のpeptideは全く影響がなく、これらは特殊なアミノ酸を含んでいるため分解されなかったためだと考えられた。以上より、ヒスチジンを含む細胞に取り込まれる大きさのpeptideは細菌が持っているpeptidaseにより分解されヒスチジンとして利用され、この試験系に影響を与えることが示唆された。

P-54

Ames試験における前培養条件の検討

○萩原利行, 梅澤高志, 内田智子, 渡辺三代子, 平野光一(三共株式会社安全性研究所)

【目的】Ames試験は種々の要因で変動する事が知られている。中でも、前培養条件は供試菌の状態を左右するため影響力の強いものと考えられる。しかし、前培養条件についての報告は少なく、至適条件を選定するのに苦慮する。中央労働災害防止協会の調査でも5時間から18時間と培養時間にかなりの開きがあり、既知変異原の応答に関しても各研究機関で大きな差が認められるものもある。

そこで我々は、Ames試験の結果をより安定化する事を目的に、L字管を用い濁度を自動印字する装置をAmes試験に応用し、①増殖時期 ②培養温度 ③振盪回数の違いによる細菌の増殖状況および変異原性応答への影響などにつき検討を行ない、至適培養条件を検索したので報告する。

【方法】培養温度は20~40°Cに温度勾配をもたせ、対数増殖後期に達する時間について、また振盪回数による影響は毎分17~50回の数点をとらえ検討した。試験はHcr, TA1535, TA1537, TA98, TA100, TA102の6菌株を用い、通常のAmes試験にて行なった。

【結果・考察】L字管を用いて1分間40回の振盪回数で37°C・5時間培養を行なえば、応答性は充分であり自然復帰変異体数も低く抑えられた。この傾向は、通常の培養で非常に高い自然突然変異を示すTA102株についても顕著であった。なお、自然突然変異体の低下に伴って、既知変異原によって示される誘導率には、我々の既存の培養条件(三角フラスコ・37°C・12hr・70往復)と比べ僅かながら上昇が認められた。

P-55

MUTAGENICITY OF WOOD SMOKE IN THE AMES TEST.

Asita, A. O.¹, M. Matsui¹, T. Nohmi¹, A. Matsuoka¹, M. Hayashi¹, T. Sofuni¹, M. Koyano² and H. Matsushita² (¹National Institute of Hygienic Sciences, ²National Institute of Public Health)

Smoke extracts from different woods used to preserve food in Nigeria were tested for mutagenic activity in the Ames test.

MATERIALS AND METHODS: Woods were burnt in tin incinerator and the smoke was passed into ethanol. The ethanol was evaporated and the extracts were tested against *S. typhimurium* TA98 and TA100, with and without S9 mix. Cigarette tar was tested for comparison. The extracts were analyzed for their content of 7 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs).

RESULTS: With S9 mix, smoke from all 6 woods and tar raised the number of His⁺ revertants to more than double the control value at one or more doses, in both strains. Without S9 mix, there was a dose response relationship but only at a few doses, did doubling of control value occur. Abura smoke was active against TA100 with or without S9 mix. All the smoke samples contained varying amounts of the PAHs investigated. Alstonia and Red mangrove smoke contained the highest amounts of the individual PAHs and they were the most active. Thus, the mutagenic activities of the smoke extracts may be attributed in part, to their content of PAHs. The activity of Abura smoke against TA100 in the absence of S9 mix could be due to other compounds.

P-56

白金錯体の変異原性

○宇野由利子, 森田昌敏 (国立環境研)

白金は、自動車排ガス用三元触媒に用いられ、大気粉塵中の白金濃度に寄与していると考えられるが、大気中での白金の化学形態についてはわかっていない。また、白金錯体の変異原性については、あまり調べられていないことから、いろいろの白金錯体を合成し、その変異原性について調べることは重要だと思われる。そこで我々は、白金錯体9種 {K₂Pt(SCN)₆, cis-Pt(NH₃)₂Cl₂, H₂PtCl₆·6H₂O, cis-Pt(tris)₂Cl₂, K₂PtCl₄, PtBa(CN)₄·4H₂O, Pt(en)Cl₂, K₂Pt(NO₂)₄·2H₂O, K₂PdCl₄} を合成し、サルモネラTA98とTA100の2株を用いてAmes Testを行った。9種中、cis-Pt(NH₃)₂Cl₂, H₂PtCl₆·6H₂O, K₂PtCl₄, Pt(en)Cl₂の4種に変異原性のあることがわかった。なかでもcis-Pt(NH₃)₂Cl₂はこの4種のうちで一番強い変異原活性を持ち、TA98, S9(+)*で60Rev./nmol, S9(-)で88Rev./nmol, TA100, S9(+)*で333Rev./nmol, S9(-)で244Rev./nmolであった。また、強い毒性も示した。H₂PtCl₆·6H₂Oは弱いながらも両株ともS9(+)*で変異原性を示し、両株ともS9(-)で殺菌作用が観察された。K₂PtCl₄は両株ともS9(+), S9(-)で変異原性を示し、特にS9(-)で強い活性を示した。Pt(en)Cl₂は弱いながらも両株でS9(+), S9(-)で変異原性を示した。

白金錯体は、制がん剤として使用されており、その制がん性と変異原性の関係は興味深いことである。今後、白金錯体の数を増やして検討していく予定である。

P-57

ニトロアレーンの還元特性と変異原性について (第2報)

福原 潔¹、○宮田直樹¹、武居美奈¹、松井道子²、松井恵子²、能美健彦²、祖父尼俊雄²、大森清美³、神谷庄造¹ (国立衛試・¹有機化学、²変異遺伝、³神奈川県衛研・薬事毒性)

1、6-及び3、6-ジニトロベンツ [a]ピレンは、1、6-及び1、8-ジニトロピレンと同様、ニトロレダクターゼを必要としない強力な変異原物質に分類される。

我々は、昨年度の本大会において、1-及び3-ニトロベンツ [a]ピレン類の6位の置換基の電子効果が、ニトロレダクターゼ欠損株 (TA98NR) での変異原性と関連することを報告した。本年度は、種々のニトロアレーン類について、分子軌道計算および電気化学的還元性の解析を行い、2電子還元され易さとニトロレダクターゼ欠損株での変異原性の強さとの相関について検討した。

ニトロアレーン類の2電子還元され易さの指標として、2電子還元体のイオン化ポテンシャルを分子軌道計算により求めた。ニトロピレン類およびニトロベンツ [a]ピレン類について、モノニトロ体よりもジニトロ体の方がイオン化ポテンシャルが低い (2電子還元され易い) こと、また、ジニトロ体においては2つのニトロ基が共鳴構造をとる場合イオン化ポテンシャルが低くなることが計算により示された。分子軌道計算で求めたイオン化ポテンシャルの値および電気化学的還元反応で求めた2電子目の還元電位の値が、TA98NR株での変異原性の強さとよく関連することから、2電子還元され易い化合物は、ニトロレダクターゼを必要としない強力な変異原物質であることが示された。

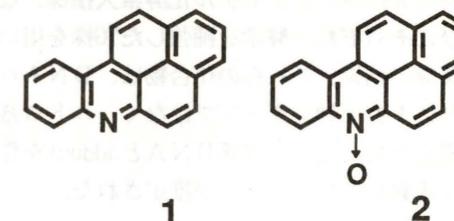
P-58

6-アザベンツ[a]ピレンの合成と変異原性について

○福原 潔¹、宮田直樹¹、羽倉昌志²、能美健彦²、祖父尼俊雄²、神谷庄造¹ (国立衛試¹有機化学、²変異遺伝)

アザアレーンは、発癌性を有する環境汚染物質として注目されている。ベンツ[a]ピレン (BaP) の6位は化学的に活性化位置であり、この位置への置換基の導入は、化学反応性、生物活性に影響を与える。今回、我々はBaPの6位の炭素を窒素原子に換えた新規6-アザベンツ[a]ピレン (1) を合成し、変異原性および化学的性質について検討したので報告する。

ベリナフテノンを出発原料とし、三行程で1を合成した。1の変異原性をTA98、TA100で調べた結果、S9mix非存在下では、ほとんど変異原性を示さないのに対し、S9mix存在下ではTA100で強い変異原性を示した (BaPの約30%程度)。これらの結果より、1は酸化的活性化を必要とするBaPタイプの変異原物質であることが明らかとなった。更に、1の酸化代謝物のひとつと考えられるN-オキシド体 (2) を合成し、変異原性を調べたところ、1よりも強い活性が見られた。活性と化学的性質との相関についても報告する。

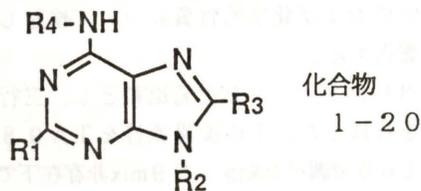


P-59

p-ニトロフェニルアデニン：変異原性を持つ核酸塩基新誘導体

松田 彰¹，上田 亨¹，○明石牧子²，小原淑子²，角谷俊文²，根岸和雄³，綿矢有佑²，早津彦哉²（¹ 北大・薬，² 岡山大・薬，³ 岡山大・遺伝子）

化学合成によって 2-phenyladenosine を調製した際、粗生成物中に変異原性を見出し、その原因が副成する 2-p-nitrophenyladenosine によることを明らかにした。そこで p-nitrophenyl 基を置換基として持つ adenine 誘導体群を合成し、それらについて Ames テストを行なって構造と活性との相関を調べた。



その結果、次の各化合物が TA98, TA100 いずれに対しても -S9 で活性を示した。1 (R₁, p-nitrophenyl; R₂, ribose), 2 (R₁, p-nitrophenyl), 3 (R₁, p-nitrophenyl; R₂, 2'-deoxy-ribose), 4 (R₁=R₂, p-nitrophenyl), 6 (R₂, p-nitrophenyl), 19 (R₃, p-nitrophenyl), 20 (R₂=R₃, p-nitrophenyl) [指定してない R 基はすべて H]。R₄=p-nitrophenyl の化合物は陰性だった。TA98, TA100 それぞれのニトロ還元酵素欠損株、O-アセチル化酵素欠損株、ならびにそれぞれの酵素を補強した YG 株を用いた実験の結果、これらの化合物は、DNA へ取り込まれて効くタイプではなく、ニトロ基が還元された上で、直接 DNA と adduct を作って変異をもたらすことが推定された。

P-60

ショウジョウバエの翅毛スポットテスト系を用いたニトロピレン類の変異原性について

古川 秀之、○河井 一明（名城大 薬）

[目的] 1,6-, 1,8-dinitropyrene (DNP) は Ames test で非常に強い変異原性を示す。しかし、発癌性の強さについては研究者により意見が多様である。演者らは cycasin, bracken その他種々の変異原の発癌性 short term test として Drosophila wing spot test がきわめて適当であると考えニトロピレン類について検討を行った。

[実験] 1-nitropyrene (NP), 1,6-DNP, 1,8-DNP いずれかを 3mg 含む培地 (Drosophila instant medium, North Carolina Biological Supply 社製) 5.2g に Drosophila melanogaster flr³/TM3, Ser 系統の雄と、mwh jv; spa^o 系統の雌を交配して得た 3 齢幼虫 100 匹を移し、成虫になるまで飼育、翅毛スポットを観察した。[結果・考察] 1-NP には変異原性は認められなかった。1,6-, 1,8-DNP は、通常の small single, large single, twin spot の分類法では変異原性は認められなかったが、翅 1 枚当たりの spot 数を spot size 毎に分類すると spot size 1 において若干 control より高い値を示した (1,6-DNP 0.38, 1,8-DNP 0.33, control 0.28)。一般に spot size 1 と 2 を合わせて small single spot と分類するが、spot size 1 だけを重視すると 1,6-, 1,8-DNP に若干の体細胞突然変異誘発作用がある様に見える。発癌性の知られる DNP が Drosophila wing spot test で弱い変異原性を示す理由としては、DNP 類の発癌実験が皮下投与あるいは肺への吸入等で行われているのに対し、Drosophila wing spot test では経口投与による為、経口投与による効果 (吸収、代謝等) 並びに Drosophila が有する修復能によるものと考えられる。

P-61

ショウジョウバエに対する近紫外光の genotoxicity とソラレンの影響 (2) - DNA 傷害修復欠損株を用いた翅毛スポットテスト

○田辺富士美、根岸友恵、早津彦哉（岡山大・薬）

UVA (近紫外光: 320-400nm) がショウジョウバエ幼虫に対して genotoxicity を有し、その活性は 8-methoxypsoralen (8-MOP) の添加で大きくなることを 2 つのテスト系を用いて報告した。今回我々は DNA 傷害作用と変異原性を同時に検出することのできる株を用いて、UVA の genotoxicity 及びソラレンの影響を調べた。

雌系として sc Z w⁺ mei-9^a mei-41^{D5}/FM7^c; mwh jv, 雄系として flr³/TM3, Ser を用いて交配し得られた幼虫を処理した。シャーレに幼虫と sucrose 溶液を入れ、軟質ガラスを通して UVA を照射した。8-MOP で処理するときは sucrose 溶液に添加した。また、非照射群は暗所に置いた。羽化した成虫のうち雄について翅毛に現われる突然変異を観察し、同時に (repair⁻) と (repair⁺) の数比より DNA 傷害作用を検出した。

UVA の変異原性は下表のように、repair⁺ に比べ repair⁻ で感度よく検出できた。また、(repair⁺)/(repair⁻) の比は +UVA で 0.46、-UVA で 0.88 となり DNA 傷害作用も検出された。

8-MOP (μM)	+UVA (9hr)			-UVA		
	small	large	twin	small	large	twin
0	32.2	4.96	0.54	16.8	0.88	0.09
	1.02	0.12	0.06	1.09	0.10	0.02
17	-	-	-	14.7	0.87	0.04
	1.09	0.74	0.29	0.90	0.11	0

上段: repair⁻ 下段: repair⁺

単位は spots/wing

P-62

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 (続報)

○原 巧, 澁谷 徹 (食薬センター 秦野研)

癌原性を短期に予測する上で in vivo の試験は重要と考えられるが、マウス小核試験の癌原予測性は高くないので (Heddle ら, 1983) 我々はショウジョウバエの翅毛スポットテストで補えないかを検討している。昨年の本学会では、小核試験で検出できなかった 5 種の癌原物質 (Heddle らの報告の後に小核試験で陽性結果が得られた 1 種を除く) について処理開始を産卵後 48 時間とした混餌法による翅毛スポットテストを実施した結果を報告した。この中で ethylenethiourea を含む 3 種はスポットの誘発が疑われたものの、明確な結論が得られなかった。しかし、梁らが本学会で既に処理開始を産卵後 72 時間とした滴下法で陽性結果を報告していたため、我々も処理開始を産卵後 72 時間に変えて再度試験を行った。その結果、40 ug/kg 群の小スポット頻度が対照群より 1% 水準で高く、陽性であった。したがって、他の化合物についても処理時期等の実験条件の変更により陽性結果が得られる可能性がある。更に、小核試験で検出できなかったもう 1 つの癌原物質である dibutyl-nitrosamine についても翅毛スポットテストを行った。その結果、1 ug/kg 群および 2 ug/kg 群の大スポット頻度がそれぞれ対照群より 5 および 1% 水準で高く陽性であった。文献調査の結果も併せると、現時点で小核試験で検出できなかった 12 種の癌原物質のうち 10 種につき翅毛スポットテストで陽性結果が得られている。したがって、小核試験の結果に翅毛スポットテストの結果を加えることにより検出される癌原物質がかなり増えるものと期待される。調べる化合物の数を更に増やし、信頼性がどの程度保たれるかを報告する。

P-63 Cyclophosphamideの Maus系統差による胎児小核出現頻度の比較

○石原尚古、加藤基恵、原 巧、澁谷 徹
(食品薬品安全センター 秦野研究所)

前回、妊娠12日目のマウス(C57BL/10)に抗腫瘍剤のCyclophosphamide (CP)を単独投与した群、薬物代謝酵素を誘導するPhenobarbital (PB) およびそれらを阻害するSKF 525-A を前処理したのちCPを投与した群について、胎児の血液・肝・雌親の骨髄細胞における小核出現頻度と奇形出現頻度を調べた。その結果、胎児の肝・血液の小核出現頻度と奇形出現との間に高い相関性があることを認めた。

そこで今回我々は薬物代謝活性化酵素の誘導能の低いマウス(DBA/2)を用いて前回と同様の小核試験を実施し、マウス胎児の小核出現頻度の系統による違いを調べた。その結果、雌親の骨髄細胞と胎児の血液では2系統のマウスの間に明らかな差が認められなかった。しかし胎児の肝ではC57BL/10マウスと異なりDBA/2マウスの小核出現頻度はCPの用量に依存して増加せず、CP単独群とPB、SKF 525-A 前処理との間に明らかな差は認められなかった。DBA/2マウスとC57BL/10マウスの胎児肝における小核出現頻度の差を明らかにするためにこれらのマウス間の正逆交配(雌親の遺伝子型は異なり、胎児の遺伝子型は同じ)を行い、CPで誘発される胎児肝の小核が雌親あるいは胎児のいずれの代謝によるものであるかを検討し、胎児小核試験の意義について考察する。

P-64 5-Fluorouracilとその代謝物の変異原性試験

○大内田昭信¹、原巧²、古川明美¹、佐藤幸子¹、加藤基恵²、石原尚古²、澁谷徹²、(¹大鵬薬品、²食薬安全センター)

5-Fluorouracil (5-FU)は核酸の代謝拮抗作用を有する制癌剤として広く用いられている。5-FUの変異原性については染色体異常試験や小核試験をはじめ様々な角度から調べられており、我々も昨年の本学会にて小核の出現が投与72時間後にピークとなる事や5-FUの主代謝物であるF-β-alanineがマウスの骨髄細胞で小核を誘発しない事などを明らかにし、報告した。

今回、5-FUの活性代謝物と考えられている5-Fluorodeoxyuridine (FdR)の変異原性を染色体異常試験や小核試験を用いて調べた。小核試験ではCD-1雄マウス(8週齢)を用い、48、95mg/kg FdRの単回腹腔内投与を行った。投与24、48、72、96時間後の小核標本を観察した結果、小核出現のピークが24時間に見られ、5-FUと大きく異なっていた。一方、染色体異常試験においては5-FUおよびFdRのいずれも5-20 μg/mlの処理用量でCHL細胞を24、48時間処理した。5-FUでは交換型の異常が認められたが、FdRでは切断型および断片型の異常が多数認められた。5-FUおよびFdRによる小核出現および染色体異常出現の作用機構が異なることが示唆された。

現在、5-Fluorouridine (FUR)についても実施中であり、これらの結果を含め5-FUおよびその代謝物の変異原性について総合的に言及したい。

P-65 粒子状物質のマウス小核誘発能

堀川和美、○村上光一、世良暢之、常盤 寛
(福岡県衛生公害センター)

有機物が高温で燃焼し、冷却すると粒子状物質が形成される。この粒子状物質には種々の化学物質が含まれ、これら化学物質の一部は変異原性、発がん性が証明されている。しかし、人体への影響を考えると、これら化学物質を含む複合物である粒子状物質の遺伝毒性を知る必要がある。そこで今回我々は、粒子状物質のマウス骨髄赤血球小核テストを実施し若干の知見を得たので、その結果を報告する。

方法: 今回使用した試料はディーゼル排ガス汚染が深刻なチリ・サンチアゴ市大気、福岡地域の昼間及び夜間採取した試料及びディーゼル排ガスの粒子状物質である。粒子状物質はジクロロメタンで抽出・乾固し、コーンオイルに溶解した。各試料はマウス(ddy系)の腹腔内に1回接種し、36時間後に屠殺し骨髄細胞のスマア標本を作成した。

結果: チリ・サンチアゴ市試料200mg/kgをマウスに接種した結果、0.33%のMNPCEが観察された。福岡地域の昼間採取した試料は50-200mg/kgを接種した。200及び100mg/kg接種群で、各々0.38、0.22%の小核誘発能が認められた。この結果は対照群と1%危険率で有意であった。一方、福岡地域の夜間試料及びディーゼル排ガス200mg/kg接種群で小核誘発能は認められなかった。さらに、粒子状物質の粗抽出物(100mg/kg)とB(a)P(100mg/kg)を混合し、マウス腹腔内に接種した。その結果、混合物はB(a)P単独接種による結果より、顕著な誘発能の増強は認められなかった。

P-66 フッ化ナトリウムのマウス骨髄細胞への小核誘発能

○鈴木勇司¹、清水英佑¹、李 傑²(¹慈恵医大 公衆衛生、²山東医大 環境衛生)

全世界で、500万人以上の人々がフッ素含有水を飲んでいるが、歯科領域、産業界でもフッ素に曝露する機会が多い。アルミ製造工場で白血病罹患率が高いのは、精錬工程でフッ素化合物への曝露が原因の一つと考えられている。昨年の本学会で、フッ化ナトリウム(NaF)の変異原性(Ames test、Fluctuation test、CHL細胞を用いた小核試験)を報告した。今回は、マウス骨髄細胞を用いたin vivoおよびin vitro小核試験にて検討した。

【方法】 In vivo小核試験: Time study; NaF 30mg/kgをBALB/c雄マウス腹腔内に1回投与後、10~72時間目に骨髄細胞を得た。Dose response study; NaF 10~40 mg/kgをマウス腹腔内に1回投与後、30時間目に骨髄細胞を得た。In vitro小核試験: 我々が開発した方法にて検討した。骨髄細胞にNaFを曝露(-S9 mix、曝露濃度; 1~16mM)し、培養開始後30時間目にスマア標本を作製した。

【結果】 In vivo小核試験: Time studyで、小核誘発頻度のピークは、NaF投与後24~30時間であったので、dose response studyでは、投与後30時間目に骨髄細胞を得たところ30mg/kgで有意に小核が誘発された。In vitro小核試験: NaFの濃度が2、4mMで陽性となったが、高濃度曝露群では毒性が強かった。**【考察】** 体細胞を用いたin vitro試験では、NaFは陽性の報告が多い。今回の骨髄細胞を用いた小核試験でも陽性となった。In vivo小核試験として、飲料水へのNaF添加実験で陰性の報告がある。しかし、我々の実験では、腹腔内投与で陽性を示した。今後フッ素化合物の発癌性も検討する必要があると考える。

P-67 マウス末梢血を用いる小核試験

小核試験共同研究グループ(JEMS・MMS分科会)
世話人代表 佐々木 有(残留農薬研究所)

小核試験共同研究グループでは、過去4回にわたり性差、系統差、投与経路差および投与回数に関する検討を行ってきた。その結果をもとに、骨髄細胞を用いる小核試験の基本的なプロトコールがまとまりつつある。

一方、小核試験は末梢血を用いる方法もあり、同一個体から経時的に標本が作製可能であるという利点があるものの、未だその有用性は明かではない。最近、末梢血を用いた標本作製の簡便な方法が林らによって開発された。今回この方法を用いて末梢血を用いる小核試験の有用性を44機関が参加して検討した。用いた検体は、2-AAF, Ara-C, B(a)P, BEN, COL, CYP, DMBA, DMN, EMS, ENU, 5-FU, KBrO₃, K₂CrO₄, MMC, MMS, MNNG, 6-MP, MTX, PCZ, PHEN, TEM, VINCの22種類の既知小核誘発物質である。

[方法] 8週齢のCD-1雄マウスを1群5匹として上記各検体を3用量以上、ipまたはpoで1回投与した。検体投与0, 24, 48, 72時間後に尾部より経時的に採血し、予めアクリジン・オレンジを塗布したスライドガラス上に滴下した。標本は蛍光顕微鏡下で小核を有する網赤血球を観察した。

[結果] ほぼ全ての検体は末梢血においてもこれまで共同研究で実施した骨髄の結果と同様に小核を誘発した。また、出現のピークは投与後48時間が最も多かった。以上の結果から、末梢血を用いる小核試験は骨髄を用いるのと同様に有効であると考えられた。

P-68 2-AAFのマウス末梢血における小核試験—連投効果と系統差—

○浅野哲秀(日東電工、中央研究所)

2-Acetylaminofluorene(2-AAF)は骨髄を用いた小核試験において、単回投与後24時間まで小核出現がピークになり、以後減少する。また、連続投与の効果については、4回投与した場合よりも、2回投与後24時間目にその小核出現頻度は最高になり、4回投与はあまり効果的でなかった。

今回、林らによって最近開発された簡便化した末梢血小核試験を用いて、2-AAFの連投効果と系統差を検討し、同時に末梢血小核試験の有用性についても検討した。

8週齢の雄CD-1およびBDF₁マウスに2-AAF(75mg/kg, 150mg/kg, 300mg/kg)を単回あるいは2回腹腔内投与後、それぞれ24, 48, 72, (96)時間目に尾部より採血、アクリジンオレンジ塗布スライドガラスに滴下し、蛍光顕微鏡で網赤血球を観察した。

単回投与では、投与後48時間目に小核の頻度がピークに達し、以後減少した。

一方、2回投与では、最終投与後24時間目にピークがあらわれ、48時間目でもまだ小核出現頻度は高く、小核出現の持続が観察された。また、CD-1マウスよりBDF₁マウスに小核出現頻度が高くなる傾向が観察されたが、2回投与の場合は明らかでなかった。

また、これらの結果より、末梢血小核試験は骨髄を用いた場合と同様に有用であると考えられた。

P-69 7,12-dimethylbenz-[a]anthraceneのマウス末梢血液を用いた小核試験

○玉井 功一¹, 栗田 未来子¹, 大槻 穂刈¹, 樋渡 恒憲¹, 林 真², 鈴木 孝昌², 児玉 幸夫², 祖父尼 俊雄²(¹保健科学研・変異原性試験室, ²国立衛試・変異遺伝部)

小核試験の新しい方法として、末梢血液の網赤血球中に出現する小核について検討した結果、興味深い所見を得たので報告する。今回の検討は、第5回小核試験共同研究の一環として実施した。

用いた被験物質は、7,12-dimethylbenz-[a]anthracene(DMBA)で、5, 10, 20, 40, 80mg/kgをcrj:CD-1(ICR)8週齢雄マウスの腹腔内へ投与した。投与後0, 24, 48, 72, 96時間に同一個体の尾部より採血し、ただちにアクリジンオレンジ(A.O.)コートスライドガラスを用いて標本作製し、原則として翌日観察した。次にDMBA 10, 20, 40mg/kgについて骨髄多染性赤血球中の小核と末梢の網赤血球中に出現する小核頻度を比較検討した。その結果、末梢の網赤血球中の小核は骨髄のPCE中の小核と比較して遅れて出現した。40mg/kg群では、投与48時間後に骨髄中のMNPCEの出現が最高(3.4%)になるのに対し、末梢網赤血球中の小核出現頻度は投与72時間後に最高値(2.7%)を示した。

これまでの結果はA.O.でコートしたスライドを用いる小核試験法が有用であることを示している。末梢血液中の網赤血球を用いる方法は、骨髄中の多染性赤血球を用いる方法と比較して、同一動物より経時的な標本作製ができるなど有利な点も多く、in vivoでの染色体異常検出系として有効であると考えられる。

P-70 Methotrexateと小核誘発能

○笠原義典, 中井康晴, 三浦大志郎, 八木君枝, 蒔田徳太郎(帝人生医研)

昨年のJEMS・MMS分科会の小核共同研究グループの共同研究では、小核試験における連投の効果を検討したが、Methotrexate(MTX)は連投効果のある数少ない検体の1つであった。MTXは葉酸の代謝拮抗作用によりDNA合成阻害活性をもつが、単回投与ではほとんど小核を誘発せず、3~4回の連続投与によって微かに小核を誘発する。

我々はこの機構を検討するため、CD-1マウスにMTXを単回投与あるいは複数回投与した後の血中濃度を酵素(dihydrofolate reductase: DHFR)阻害活性測定法と、HPLC法によって測定するとともに、骨髄細胞中の染色体異常を観察した。また骨髄から取り出した細胞に対してMTXを処理し、その細胞質中のDHFR活性に及ぼす影響を検討した。その結果、血中濃度は単回投与、複数回投与によっても大きな変動はなかったが、骨髄細胞の染色体異常は4mg/kg、4回投与後6時間で6~8%と微かに増大していた。また骨髄細胞にMTXを処理すると細胞質中DHFR活性は時間依存的に阻害された。

以上から、MTXは連続投与により血液中への蓄積性は少ないものの、骨髄中DHFRへの阻害効果は蓄積しDNA合成阻害活性によって染色体異常を誘起し、小核を誘発するものと考えられる。一方、単回投与ではDHFR阻害効果は一時的であり、極端な増殖抑制が認められるか、小核誘発に関しては無影響であるという機構が考えられる。

P-71

ラット末梢血を用いる
小核試験法の検討

○青儀巧¹, 児玉幸夫², 鈴木孝昌², 林 真²,
祖父尼俊雄²(¹大塚製薬徳島研究所, ²国立衛生試験所)

ラットではマウスと異なり小核を持つ赤血球は脾臓においてトラップされることが知られており, 末梢血を用いる小核試験は困難であろうと考えられていた. 最近Romagnaら¹⁾は, ラットにおいてもマウスと同様に末梢血小核試験が可能であると報告している. しかし, 彼らの方法はPercoll-gradientによる多染性赤血球の濃縮が必要で, 標本作製が煩雑である. 著者らの開発したアクリジン・オレンジ・コート超生体染色法は, 標本作製と染色が簡便で, 且つ, 網赤血球を容易に観察できる点において優れている. ここではこの手法を使って末梢血小核試験法にラットを用いることができるかどうかを検討した.

1群4匹のSDラットにcyclophosphamide (CYP)またはmitomycin C(MMC)を単回投与した. 投与0, 24, 48, 72時間後に微量の末梢血を同一個体の尾部より採血し, 新鮮血を等量の牛胎仔血清と混合して, アクリジン・オレンジをコートしたスライド・ガラスにのせ, 超生体染色した. 600倍の蛍光顕微鏡を用い, 個体当たり1000個の網赤血球を観察し, その中に出現してくる小核の頻度を求めた. その結果, CYP, MMCともに投与48時間後に対照群と比較して高い小核頻度を示し, ラット末梢血を用いる小核試験が可能であることが示唆された.

なお, 脾臓を摘出したラットについても目下検討中である.

1) Mutat. Res., 1989, 213, 91-104

P-72

倍数性細胞の経時的変化

○古川明美, 佐藤幸子, 大内田昭信 (大鵬薬品 安全性研)

我々は, in vitro染色体異常試験において特異的にpolyploidを誘発することが知られている化合物について in vitroおよびin vivoでのpolyploidおよび小核の出現について報告してきた. 今回, polyploid誘発剤により生じた倍数性細胞が経時的にどのような変動を示すかを調べる目的で以下の検討を行った.

フィン・カムスター由来の培養細胞(CHL)をthiabendazole (TBZ: 45, 90 μ g/ml)で24, 48時間処理した. 培養液を交換し経時的に染色体標本および小核標本作製した. 染色体標本については倍数体を2n~8nに分類し, さらに2n体について染色体数を数えた. 小核標本については1核, 2核, 多核および変形核に分類した. TBZ処理によって生じた倍数体(2n~8n)は, 通常の培養液に戻すことにより倍数体が減少したが, 異数体の増加が認められた. また小核標本については, TBZで処理中は, 1核細胞の減少と2核および多核細胞の増加がみられたが, 培養液交換により回復がみられた.

現在, narcotineなどのpolyploid誘発剤についても染色体異常試験や小核試験を実施しており, また TBZなどで処理された細胞の長期継代実験についても実施しておりそれらの結果についても合わせて考察したい.

P-73

CHL細胞を用いた小核試験と構造異常試験との比較

○李 傑¹, 鈴木勇司², 清水英佑² (¹山東医大, 環境衛生, ²慈恵医大, 公衆衛生)

発癌物質短期検索法の1つとして, 染色体構造異常試験が広く用いられているが, 染色体標本作製技術および染色体異常の判別に熟練を要するため, 簡便な方法の開発が望まれる. そこで我々は, 手技が簡単で, 小核試験の判別も容易な CHL細胞を用いた小核試験法が構造異常試験法の代替となるかどうか検討した.

【方法】 実験は, 6cmプラスチックシャーレに10⁵個の細胞を播き, 培養 2日目に被験物質(28種類)を添加した. 50% 増殖抑制濃度付近を最高濃度として, 5濃度段階を用いて試験を実施した. 被験物質を添加後, 24時間目に, トリプシン処理をし, 遠心して上澄を除き, 37℃に加温した 135mM KCl溶液を約 5ml加え4~5分間低張処理をした. 次に, メタノール・氷酢酸(3:1)固定液を加えて固定後, 清浄なスライドガラス上に細胞浮遊液を滴下し, 風乾した後, 4%ギムザ染色液で15分間染色した. 各濃度あたり4000個の細胞を数え, 出現する小核を有した細胞の頻度を求めた. 【結果および考察】 試験をした28物質中, 27物質が陽性を示したが, tegafur (CHL細胞による染色体構造異常試験では陽性)のみが陰性を示した. Sodium fluorideは, CHL細胞による染色体構造異常試験で陰性であったが, CHL細胞を用いた小核試験では陽性となった. これらの物質以外は, 両試験系ともに陽性となり, 高い一致率を示した. また, 発癌物質として知られている物質との一致性も高かった. 以上の結果から, CHL細胞を用いた小核試験は, 構造異常を指標とした染色体異常試験とほぼ同等の試験方法であるといえる.

P-74

高磁場の白血病誘発物質に及ぼす影響

○清水英佑¹, 鈴木勇司¹, 関 良子¹, 李 傑² (¹慈恵医大 公衆衛生, ²山東医大, 環境衛生)

電磁場曝露と白血病発生に関する疫学調査報告があるが, 近年高磁場曝露の機会が増えていることから, 高磁場の細胞への影響について, Salmonella菌や CHL細胞を用いて検討してきた. 今回は, 高磁場の白血病誘発物質の小核誘発能に及ぼす影響を CHL細胞を用いた小核試験で検討した.

【方法】 高磁場発生装置は, 日本電子社製 FTNMR GSX 500 (11.75T)を使用した. 磁場発生部位(内径 25mmのボア内に設置した銅管内(高さ300mm, 36 \pm 0.1 $^{\circ}$ C))に CHL細胞を単層に生育させた試料瓶(培地; 10% CS加 MEMに HEPES緩衝液を添加したもの)を入れた. 白血病誘発物質 1-ethyl-1-nitrosourea, 1-butyl-1-nitrosourea, urethaneの3物質について各々 24時間曝露後, 低張処理, 固定, 染色した. 結果は, 1000個の細胞を数えて, 小核誘発頻度を求めた.

【結果】 磁場曝露のみでは, 小核誘発頻度への影響は認められなかった. 1-ethyl-1-nitrosourea, 1-butyl-1-nitrosourea, urethaneの3物質ともに, 磁場曝露による小核誘発頻度への影響は認められなかった.

【考察】 前報の Ames testと同様に, CHL細胞でも磁場曝露した場合と曝露しない場合との差は認められなかった. 一方, 化学物質共存下での磁場曝露による影響は, 細菌の場合とは異なり陰性であった. 他の白血病誘発物質についても検討中であるので, あわせて報告するとともに, ヒトリンパ球を用いた実験や変動磁場による影響も検討する必要がある.

P-75 Damage to lymphocytes by X-ray and bleomycin measured with the cytokinesis-block micronucleus test

Y. Odagiri¹, M. Fenech², A.A. Morley³ and K. Takemoto¹ (¹Saitama Medical School, ²CSIRO Australia, ³Flinders Medical Centre, Australia)

Chromosome damage induced by X-irradiation or bleomycin (BLM) was measured using the cytokinesis-block micronucleus assay in the peripheral blood lymphocytes of 6 newborn, 8 young and 10 elderly individuals. An increase in the frequency of spontaneous micronuclei with age was observed. There was no difference in the X-ray-induced micronucleus frequency between the three groups. There was a significant increase with age in the number of micronuclei induced by BLM. Kinetochores-labelling studies revealed that the percentage of kinetochore positive spontaneous or BLM-induced micronuclei (36.2-43.3%) was significantly ($p < 0.01$) higher than that of X-ray-induced micronuclei (17.1-19.7%). The age-related increase in frequency of spontaneous or BLM-induced micronuclei was due to increases in both kinetochore-positive and -negative micronuclei. The frequency of kinetochore-positive or -negative micronuclei induced by X-irradiation was not different between the three age groups.

The results suggest that BLM is more potent in inducing whole chromosome loss than X-rays, and that lymphocytes from aged individuals are more sensitive to BLM, possibly due to age-related decline of non-DNA repair mechanisms or due to repair deficiency of BLM-specific DNA damages which affect both chromosome breakage and whole chromosome loss.

P-76 小核部位におけるDNA合成時期の検討

軽部敏昭¹ 川村 堅¹ 小田切陽一¹
竹本和夫¹ 渡辺 昌² (埼玉医大 公衛、
²国立がんセンター 研究所 疫学)

小核は染色体の切断の結果、主核とは独立した状態で細胞質内に存在するが、この部位においても主核と同様にS期においてDNAの合成を行っている。我々は変異原物質によって誘発された小核と、同一細胞での主核との間でDNAの合成時期の違いが生じているのではないかという仮説を考えた。この証明にヒトリンパ球での小核試験を応用し、抗BrdU抗体を用いる免疫組織染色法で、主核、小核部位でのDNA合成時期の違いについて検討した。

ヒトリンパ球を用いPHAで幼弱化させた後、放射線、Bleomycin、Mitomycin Cの3種により小核を誘発した。72時間の培養終了のそれぞれ1時間と2時間前にBrdUを添加した後、Cytospinを用いスライドガラス上に標本を作製した。Giemsa染色を行い小核部位を記録した後脱色し、次に抗BrdU抗体を用いる免疫組織染色(ABC法)で核内に取り込まれたBrdUを標識した。この結果、同一細胞での主核と小核での染色パターンは主核と小核ともに陽性、主核陽性で小核陰性、主核陰性で小核陽性、主核と小核ともに陰性の4つがみられた。それぞれ3種類の誘発物質によるパターンの違いを検討し、小核部位でのDNA合成時期の移行について考察した。

P-77 Mitomycin C による *in utero* マウス初期胚のSCE誘発 [II]

○三瀬敬治、浦澤正三 (札幌医科大学 衛生学講座)

我々は第18回本学会(平成元年)において、BALB/c マウス初期胚細胞の *in utero* 実験系で Mitomycin C (MMC) によって誘発される姉妹染色分体交換 (SCE) の頻度はMMCの濃度依存的に変化すること、また同時にその頻度は胚の発生段階によって変化する可能性を報告した。

我々はさらに広範囲の発生段階、すなわち交尾後6.5日から9.5日における胚、胎児細胞および同時期の母体大腿骨髄細胞のSCE頻度を一定濃度(4.0mg/kg)のMMC投与条件下で調査した。

その結果、母体細胞において誘発されるSCE頻度は、胎児の発生段階とは無関係にほぼ一定で、1メタフェーズ当たり約25であった。しかし胎児細胞では、6.5日胚においては母体細胞と同程度であるが、7.5日胚ではSCE頻度の上昇することが確認された。このSCE頻度の上昇率は昨年の報告とほぼ等しく、母体細胞および6.5日胚の約1.5倍であった。さらに8.5日胚でも7.5日胚と同程度の頻度でSCEの誘発が見られたが、9.5日胚では再び母体細胞と同程度のSCE頻度にもどることが確認された。

以上の結果から、マウス胚細胞は交尾後7.5から8.5日目の発生段階において、MMCに対するSCE感受性が特異的に上昇することが示唆された。

なお、現在MMCと同様に典型的なSCE誘発物質である、N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidineを用いて同様の実験を行っており、合わせ報告の予定である。

P-78 チャイニーズハムスター由来の培養細胞(CHLおよびCHO-K1)における細胞周期の遅延と染色体構造異常誘発に関する研究

○山本圭介、小木曾重文、小田原恭子、原正樹、吉武彬 (住友化学 安全性研)

哺乳類培養細胞を用いた染色体異常試験に用いられているチャイニーズハムスター由来の培養細胞2株(CHLおよびCHO-K1)の化合物に対する感受性を、細胞周期の遅延と染色体構造異常誘発性により比較した。

CHLおよびCHO-K1にマイトマイシンC(MMC)を添加し、2時間後に5-ブロモ-2'-デオキシウリジン(BrdU)を加えて処理したのちAir-dry法により染色体標本を作製した。また無血清培地中で細胞にシクロホスファミド(CP)およびS9mixを2時間処理し、BrdUを含む培地に交換して処理したのち染色体標本を作製した。標本をFPG法により分染し、細胞周期および構造異常の有無について観察した。

MMCに対するCHLの構造異常誘発の頻度はCHO-K1よりも若干強く現われたが、細胞周期の遅延を比較した結果、その差は細胞周期の長さの違いに起因するものであると考えられる。CPに対するCHLの細胞周期の遅延と構造異常誘発の頻度はCHO-K1よりも数倍強く、2細胞株の感受性には明らかな差異が認められる。

染色体異常の出現は化合物によって誘起される細胞周期の遅延により影響をうける。化合物に対する細胞の感受性を詳細に比較するには、染色体異常と細胞周期の遅延の両方を評価することが重要である。

P-79

国際協力研究による哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験の比較検討

○祖父尼俊雄, 山崎奈緒美, 松岡厚子, 鈴木孝昌, 林真, (国立衛試・変異遺伝)

米国NTPでのCHO細胞による試験結果と、本邦でのCHL細胞による試験結果と比較検討したところ、同一ロットの化合物でありながら、明らかに試験結果が異なる場合のあることが判明した(第17回大会)。そのため、異なる試験結果をもたらす要因を究明するために、米国、英国、日本による国際的な協力研究が進められている。

我々は、米国NTPで用いられているものと同一の細胞(CHO-WBL)を入手し、CHLの試験プロトコルで実験を行った。NTPの試験で陰性結果となったN',N'-di-phenyl-p-phenylenediamine (DPPD) およびN',N'-di-2-naphthyl-p-phenylenediamine (DNPD)は、CHO-WBL細胞を用いてもCHLプロトコルで試験を行うことによって陽性結果が得られた。

BudRを用いて細胞分裂の回数を調べると、溶媒対照の24時間ではほとんどが2回目の分裂であるのに対し、DPPDの高濃度の24時間処理では全てが1回目の分裂であり、24時間処理の妥当性が支持された。溶媒対照の48時間では大部分が3回目以降の分裂であるが、DNPDの48時間処理では、1回目の分裂のみみられる高濃度、2回目の分裂が現われる中濃度においても染色体異常の出現が認められた。これらの結果は、細胞分裂の遅延や異常誘発までのタイムラグなどの要因によって48時間の連続処理においても染色体異常の検出が可能となることを示唆している。現在、CHL細胞を用いてCHOプロトコルで試験を行い、比較検討中である。

P-80

染色体異常試験に及ぼす血清の影響

○鶴井淑江¹, 浅倉真澄¹, 野口忠¹, 山岸美紀¹, 井上みゆき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)

[目的]染色体異常誘発率に及ぼす血清の影響をCHL細胞を用いて検討した。

[実験方法]①CHL細胞をロットの異なる血清の培地で培養し、種々のタイプの変異原性物質を投与し、ロット差による感受性の違いを検討した。②ベンゾ(a)ピレンに対して感受性の異なる2種類のロットの血清を用いて細胞を培養し、物質処理時と6時間処理後に培地を交換するときの血清を種々の組合せで行い、感受性を比較検討した。③ロットにより細胞の増殖率が異なる血清を用いて、マイトマイシンC、ベンゾ(a)ピレンに対する感受性の違いを検討した。

[結果]①一概に、どの血清の感受性が高いということとは言えないが、シクロホスファミドやベンゾ(a)ピレンをS9存在下で処理した場合、感受性の高い血清があった。②誘発率は、物質処理時以降に交換した培地には左右されず、それ以前まで培養していた培地に左右された。③この2物質においては、増殖率が極端に悪いロットで感受性が高かった。また、2物質において細胞の播種数による感受性の違いはみられなかった。

P-81

各種培養細胞における酸性pHの染色体異常誘発性

○森田健, 長岐為一郎, 福田一郎, 奥村和夫 (日本グラクソ株式会社 東京研究所)

酸性pHはチャイニーズハムスター(CHO)細胞およびマウスリンフォマ(L5178Y)細胞に染色体異常を誘発することが報告されているが、その機構は明らかでない。一方、ラットリンパ球では異常の誘発を認めなかったという報告もある。そこで我々は、酸性pHの染色体異常誘発性(細胞種、異常誘発pH)が普遍的なものかを、各種培養細胞を用いて検討した。

細胞は、チャイニーズハムスター由来のCHO, CHL, Don, V79およびヒト由来のHeLa, 末梢血リンパ球を用いた。培養2-3日目に、pHを7.2-5.8に調整した培養液(MEM, 有機緩衝剤として15mMのMESあるいはBis-trisを含む)に交換し、24時間後に常法に従い染色体標本作製した。CHOおよびCHLではpH6.5-6.4で異常が誘発されはじめ、pHの低下とともに異常出現頻度を増しいずれも最高20-40%の異常を示した。DonはpH6.6-6.0の範囲で5-10%の異常を誘発したが、明確なpH依存性は示さず、V79は低pHで異常の誘発傾向を示したものの、最高頻度はpH6.0での6.5%であった。HeLaはpH6.6-6.2にかけて、リンパ球はpH6.0-5.8にかけて5-10%の異常を誘発した。いずれの細胞においても誘発された異常の約9割が染色分体の切断、ギャップであった。以上、酸性pHの染色体異常誘発性は細胞によって大きく異なるが、異常のタイプは同じであることが示された。細胞毒性、異なる処理時間による結果についても併せて報告したい。

P-82

エトポシドがヒトリンパ球に誘発する染色体異常とSCEの個人差に関する基礎的研究

○大江 武^{1,2}, 徳田光男¹, 中道貴美代¹, 阿部達生¹ (¹京都府立医大・衛生,²京都女子大・家政)

変異原などの環境要因の作用が、個体間で等しく発現しない事実は、宿主側の遺伝的要因の重要性を示唆している。環境要因に関する遺伝的要因を理解するのに細胞遺伝学的手法は有効と思われる。そこで今回は、トポイソメラーゼIIの阻害剤であるエトポシドが、ヒト培養リンパ球に誘発する染色体異常とSCEを指標に、ヒト体細胞に及ぼす影響と個人差について報告する。【材料・方法】健康ヒト末梢リンパ球を15% FCS加 RPMI1640培地でPHA添加のもとに37°Cで培養した。1)終濃度 10^{-11} ~ 10^{-5} Mのエトポシドを培養開始時に加え、BrdU(終濃度5 μ g/ml)は培養開始後24時間目に加えた。2)染色体標本は48および72時間目に通常の方法で作成し、Giemsa染色、FPG染色を行った。それぞれにつき分裂指数(MI)を求め、染色体異常およびSCEを分析した。【結果】今回、検討した健康者3名についての結果は次の通りである。1)分裂指数はいずれも 10^{-6} Mの濃度で急激な低下が見られ、それ以上の濃度では細胞は認められなかった。2)染色分体ギャップ(ctg)および切断(ctb)の頻度は 10^{-7} Mでは、細胞当たり約0.3-0.4であったが、 5×10^{-7} M,あるいは 10^{-6} Mでは頻度にばらつきのある傾向がみられた。3)SCE頻度はいずれも 10^{-7} Mで、平均値8.5-11.1の範囲内で上昇した。4)今後さらに例数を増し、エトポシドで誘発されるヒトリンパ球での染色体異常およびSCEの個人差に関する基礎的研究結果について報告する。

P-83

霊長類細胞株を用いた変異原検出系の検討

○岸 邦和¹, 石田貴文² (¹杏林大 保健,
²東大 理)

変異原性の試験には、バクテリアあるいはげっ歯類の細胞が用いられることが多い。しかし、薬剤等に対する感受性は生物種によって異なるため、「人間への影響」という観点からは、げっ歯類とヒトとの種間の差を埋める検出系の確立が望まれる。霊長類は、げっ歯類に近い原猿からヒトに近縁な類人猿まで多種に分化した生物群であるため、種々の霊長類から樹立した細胞株は、げっ歯類とヒトの間隙を埋める変異原検出系として期待できる。そこで我々は多種の霊長類から細胞株を樹立し、原猿由来の細胞株であるキツネザル由来Tリンパ芽球細胞株およびガラゴ由来皮膚線維芽細胞株、類人猿由来の細胞株であるオランウータン由来Bリンパ芽球細胞株およびボノボ(ピグミーチンパンジー)由来Bリンパ芽球細胞株について、核型、細胞倍加時間、自然誘発染色体異常頻度、自然誘発姉妹染色分体交換頻度、マイトマイシンCに対する染色体感受性などの性状を解析した。また、むし歯予防に用いられているフッ化ナトリウム(NaF)が、ヒト由来細胞には染色体異常を誘発するが、げっ歯類由来細胞には異常を誘発しない点に着目して、上記霊長類細胞株のNaF感受性をしらべた。その結果、NaFによる染色体異常の誘発はボノボおよびヒト由来の細胞株にのみ認められ、霊長類細胞株がげっ歯類とヒトとの種間の差を埋める検出系として有用であると考えられた。

P-84

アドリアマイシンのマウス卵母細胞処理による転座ヘテロ個体の誘発

○加藤基恵、石原尚古、澁谷徹
(食品薬品安全センター)

化学変異原物質をマウスの雄生殖細胞、特に減数分裂後の精子細胞や精子の時期に処理した場合、次世代のF1に転座ヘテロ個体が高頻度誘発されることが知られている。一方、化学変異原物質を雌の卵母細胞に処理した場合、高頻度に転座ヘテロ個体が誘発された報告はこれまでにない。演者ら(1990)はアドリアマイシンを卵母細胞に処理し、1細胞期胚の卵子由来の染色体分析を行なった結果、染色体型の異常が誘発されたことを報告した。これまでに演者らは、1細胞期胚において染色体型の異常が誘発される場合には、次世代において転座ヘテロ個体が高頻度に誘発されることを認めている。今回は、アドリアマイシンを卵母細胞に処理した場合、次世代において転座ヘテロ個体が高頻度に誘発されるかどうかを転座試験で調べた。

雌マウスの腹腔内にアドリアマイシンを3mg/kg単回投与し、無処理の雄マウスと投与後4日間交配させ、F1の雄における妊性試験を行なった。

その結果、アドリアマイシン処理群においては、106匹のF1雄個体のうち、1匹の半不妊と2匹の不妊F1が検出された。一方、溶媒対照群においては、102匹のF1雄個体のうち半不妊および不妊マウスは検出されなかった。

以上の結果より、化学変異原物質を雌の排卵前(減数分裂前)の卵母細胞に処理した場合でも、転座ヘテロ個体を誘発する可能性が示唆された。

P-85

Resorcinolの染色体異常誘発に関する一考察

○石原幸治、中島和子、坂本 了
(日産化学工業(株) 生物科学研究所)

Resorcinolはヒト末梢血リンパ球のin vitro試験系において、主に染色分体の切断およびギャップを誘発するが、株細胞のCHOやヒト線維芽細胞では染色体構造異常あるいはSCEを誘発しない(F. Darroudi et al, 1983)。またリンパ球の単離培養法でも染色体異常が誘発されることからstyrene等で見られるようなリンパ球培養時の赤血球による代謝も関与していないと考えられ、ヒトリンパ球に特異的な感受性のある薬剤と考えられる(同)。今回、われわれはそのことを確認するとともに、その原因を解析するためにリンパ球及びCHLを用いて実験を行った。その結果、CHLでも500μg/ml 48時間処理で染色体構造異常が誘発され、S9(+)及びS9(-)で細胞毒性に大きな差が観察された。またリンパ球の処理時期及び培養時間を24-48h, 48-72h, 72-96hの3種類をとって比べてみると、48-72hの感受性が最も高かった。このことから、さらにリンパ球のsubpopulationについての感受性あるいはResorcinolの代謝及び作用時期に関して検討を加え報告する。

P-86

Aporphine型アルカロイドのin vitro染色体異常誘発性について

○只木晋一¹、野坂富雄¹、石野正蔵¹、
田中章男¹、森本 功¹、国友順一²
(¹埼玉衛研、²武庫川女子大・薬)

我々はさきにAmes testを用いたisoquinoline系アルカロイドの変異原性について調べ、幾つかのaporphine型アルカロイドがS9 mixの添加時に強い変異原性を示すことを本学会で報告した(第17回大会)。

今回、さらにチャイニーズ・ハムスター(CHL)細胞を用い、aporphine型アルカロイド10余種について、in vitro染色体異常試験を行った。直接法と代謝活性化法の両試験法を用いて調べたところ、試験に供したものの多くが、Ames testの場合と異なり、S9 mix無添加時にも染色体異常誘発性を示すことがわかった。そのうち、最も低濃度で陽性を示したのはliriodenineであり、直接法(24hr)で濃度5μg/mlのときに13%、代謝活性化法(S9 mix(-))で濃度12.5μg/mlのときに16%であった。また、S9 mixを添加した場合に無添加時と比べ染色体異常誘発性の高くなるもの(dicentrine、steporphine等)や、抑えられるもの(domesticine等)が観察された。さらに、polyploidの発生をみるもの(roemerine-HCl等)もあったが、そのときにもS9 mixの添加による影響が観察された。

以上の結果を含む、各アルカロイドの試験結果に考察を加えて報告を行う。

P-87

コロニー形成法による雑種細胞
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, 田中憲徳¹

(¹食薬安全セ・秦野研・細胞生物, ²鳥取大・
医・生命科学)

ガン形質を抑制する多数の染色体(遺伝子)の存在が明らかとなり、特定染色体の脱落と発ガンとの関係が注目されるようになった。従って、染色体の数の異常を誘発する物質を検出する事が重要な課題となってきている。

A9(GM3552)-2細胞は、HGPRT 欠損株であるマウスA9細胞にHGPRT 遺伝子を有するヒト染色体を1本導入して作製した雑種細胞である。昨年の本大会では、ヒト染色体の数をマーカーに異数性誘発物質の検出を試みたが、本年度は、ヒト染色体に位置しているHGPRT 遺伝子をマーカーに、分析がより簡便でかつ精度の高い異数性誘発物質の検出系の開発を試みた。即ち、ヒト染色体が脱落した細胞は6-チオグアニン(6TG)を含む培地で増殖可能である事から、薬剤により誘発される6TG 耐性コロニーの頻度を求め、薬剤の異数性誘発能を検討した。

A9(GM3552)-2細胞を0.005-0.04 $\mu\text{g/ml}$ の濃度のコルセミドで24時間処理し、PBS で洗浄後、新しい培地で培養した。24時間後細胞を剥がし、dish当たり $1-5 \times 10^4$ 個の細胞を再播種し、5 $\mu\text{g/ml}$ の6TG を含む培地で14-16日間選択培養後、6TG 耐性コロニーの数をカウントした。その結果、生存細胞数当たりの6TG 耐性コロニーの頻度がコルセミドの濃度に依存して上昇した。この結果は昨年ヒト染色体の数の分析結果と良く一致し、コロニー形成法が異数性誘発物質の検出に有効である事が示された。

現在、昨年の染色体分析に用いたDiethylstilbestrol, Mitomycin C, Podophyllotoxin, Vincristine に加え、更に数種の化合物を用いて本検出系の有効性を検討中である。

P-88

Chinese hamster細胞系の変異原物質に対する感受性の比較 I. 姉妹染色分体交換

○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)

染色体異常試験に汎用されるChinese hamster由来の細胞系V-79、CHO、CHL及びDonを用い姉妹染色分体交換(SCE)を指標として変異原物質に対する感受性を比較検討した。

培養条件は培養液(CHOのみHam's F12とし、他はEagle's MEM)を除き出来る限り統一した。最初にdoubling time及びBromodeoxyuridine(BrdU)誘発性SCEを調べ、次に作用機序の異なる数種の変異原物質を用いSCE誘発性を調べた。変異原物質としてはEthyl methanesulfonate(EMS)、Mitomycin C(MMC)、UVおよびBenzo(a)pyrene(BP)を用いた。EMSとMMCはBrdUと同時に培養液に添加し、UVはBrdU添加の直前に照射し、BPは単独またはS-9 MixとともにBrdU添加直前数時間のpulse-chase処理をした。いずれの場合もSCEは第二分裂中期細胞(M₂)で調べ、誘発SCE頻度はbaseline SCE頻度を引いた細胞当たりのSCE数とした。結果を要約すると、(1)doubling time: V-79、CHO、CHL及びDonで、それぞれ10、12.5、13及び15.5hrで、BrdU添加に伴う大きな変化は認められなかった。(2)baseline SCE頻度: 各細胞系ともSCE頻度のbaselineはBrdU 10^{-6} ~ $5 \times 10^{-6}\text{M}$ で認められたが、BrdU誘発性SCE頻度はCHO及びCHLでやや高めであった。またCHOは低BrdU濃度域で姉妹染色分体の分染が得にくい傾向が認められた。(3)誘発SCE頻度: CHOはEMSおよびUVに対して高い感受性を示した。DonはMMCおよびUVに対してやや感受性が低かった。CHLとV-79は常に中間的な感受性を示した。

P-89

環境汚染が懸念される農薬の細胞毒性およびSCE

○黒田孝一¹、山口之彦¹、円藤吟史²、阪
育子³(¹大阪市環境科学研、²大阪市大学医
³大阪薬大)

現在多種多様の農薬が農耕地のみならず、ゴルフ場、公園等解放的でしかも身近な環境で使用され、汚染の影響が懸念されている。河川水中に頻りに検出される農薬のうち、10種(除草剤 chlornitrofen, chlomet hoxinil, molinate, thiobencarb, shimazine, simetryn, piperophos, oxadiazone、殺虫剤 diazinon、殺菌剤 iprofenfos)を選択し、V79細胞を用いて細胞毒性、SCEを、またレクアッセイによってDNA 損傷性を調べた。細胞毒性は試料投与28時間後の分裂指数(MI)および分裂回数(DS、染色分体分染率)を指標にした。

結果

SCE を強く誘起する農薬はなかった。MI, DSを溶媒対照の50%に抑制する濃度が10 $\mu\text{g/ml}$ 未満の農薬はchlornitrofen, chlomet hoxinil, shimazine, oxadiazone の4種であった(最少chlornitrofen 0.065、最大piperophos 204.6 $\mu\text{g/ml}$)はほぼ同じであったが、マウス、ラットのLD₅₀とは毒性の順位がかなり異なっていた。

レクアッセイは孢子プレート法で行った。simetryn が1000-2500 $\mu\text{g/disc}$ の投与量で阻止帯を形成し、M45とH17の差は3.5-2.0 mmで明らかなDNA損傷性を示した。

P-90

MNNG処理による ada 遺伝子発現に対するジチオカーバメート系農薬マンネブの抑制効果

○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)

アルキル化剤特有の修復機構である適応応答を修飾する物質は既にいくつか報告されている。今回我々は、農薬の適応応答修飾能を調べるために、大腸菌 ZA201株にプラスミドpYM30(ada'-lacZ')を導入した菌株を用いてMNNG処理による ada 遺伝子の発現に対する農薬の効果を検討したところ、ジチオカーバメート系農薬マンネブが著しい発現抑制効果を示したので報告する。

大腸菌 ZA201/pYM30株を MNNG およびマンネブで20分間増殖培地中で同時処理し、さらに2時間培養した後に通常の方法でB-galactosidase 活性を測定した。その結果、マンネブの増加と共に B-galactosidase活性が減少し、ada 遺伝子発現の著しい抑制が認められた。この抑制効果は他のジチオカーバメート系農薬であるメタムアンモニウム、ジネブ、ジラム、ポリカーバメート、チラムおよびミルネブにおいても認められた。また、MNNG 以外のアルキル化剤 MNU, DMS, ENNG および ENU についても調べたところ、全てのアルキル化剤でマンネブの添加により ada 遺伝子の発現が抑えられた。しかし、ENU においてはその抑制効果は弱いものであった。

マンネブの作用を明確にするために、MNNG 誘発突然変異に対するマンネブの効果を検討中である。

P-91 N-ニトロソジアルキルアミンの代謝活性体の突然変異原性およびDNAのアルキル化におよぼす低級脂肪酸の抑制効果

○武田 啓¹, 姜 鎬一², 許 南浩², 望月正隆¹ (¹共立薬大, ²東・医科研・癌細胞)

低級脂肪酸(ギ酸~プロピオン酸)が、直接変異原性N-ニトロソ化合物の、サルモネラおよび大腸菌に対する突然変異原性の発現を抑制することは既に報告した。この抑制は、N-ニトロソジアルキルアミンの代謝活性体である α -ヒドロキシ体に対して最も強く、同じアルキル化活性種を生じるN-ニトロソアルキル尿素に対しては弱かった。この低級脂肪酸による変異原性発現の抑制機構を菌のアルキル化から検討した。

変異原としてN-ニトロソエチル尿素と、N-ニトロソジアルキルアミンの代謝活性体であるN-ニトロソ-N-(ヒドロキシメチル)エチルアミン(α -ヒドロキシ体)を用いた。変異原とサルモネラ TA1535 をリン酸および酢酸緩衝液中、37°Cで10分間インキュベーションした後、DNAを抽出、加水分解した。存在するデオキシグアノシン(dGuo)量をHPLCで、また生成したO⁶-エチルデオキシグアノシン(O⁶-EtdGuo)量を特異的抗体を用いたラジオイムノアッセイで測定し、dGuoあたりのO⁶-エチル化体の量からアルキル化率を求めた。

α -ヒドロキシ体およびN-ニトロソエチル尿素によるアルキル化率は、リン酸緩衝液中に比べ酢酸緩衝液中で少なく、行なった条件下で酢酸は、DNAのアルキル化を抑制することが示された。同時に行なった変異原性試験の結果、アルキル化の抑制に比べ変異原性抑制の効果が強かった。

P-92 高分子担体を応用した亜硝酸捕捉剤の開発

畑中豊¹, ○豊田佳子¹, 加古ゆかり¹, 諏訪芳秀¹, 鎌谷東雄², 長尾美奈子³ (¹サントリー・基礎研, ²静岡県大・薬, ³国立がんセ・研・発がん)

食品中のアミン類と亜硝酸イオンとの反応によりN-ニトロソ化合物が生成されることが既に知られている。本年の癌学会において我々はN-ニトロソ化合物生成を阻止する物質としてp-アミノ安息香酸(PABA)の亜硝酸捕捉効果について報告したが、PABAは一部の食品に対しては亜硝酸添加時の変異原性を上昇させることがわかった。また、最近解明されつつある亜硝酸イオンの生体機能への関与を考慮すると、亜硝酸捕捉剤の消化管からの過剰な吸収は安全性上避けなければならない。そこで本研究では高分子ポリマーを応用した難消化性の亜硝酸捕捉剤について検討した。

亜硝酸捕捉作用は、抗変異原活性により検定した。即ち、各種食品への亜硝酸塩添加によって生じる変異原性上昇に対する高分子ポリマーの抑制効果を*S. typhimurium* TA100株を用いたAmes Testにより判定した。

その結果、数種の高分子ポリマーに抗変異原活性が認められた。その中でも、EAH-Sepharose 4BにPABAを結合させたPCES(PABA-Conjugated EAH Sepharose 4B)とThiopropyl-Sepharose 6Bは、上記反応による変異原性の上昇をほぼ100%抑制した。また、PCESとPABAとの効果をアミノ基換算で等モルで比較した結果、試験したいずれの食品についても、PABA単独時の数倍の抑制効果が見られた。また、一部の食品に見られた亜硝酸添加時のPABAによる変異原性の上昇は、PCESでは見られなかった。

現在、これら高分子ポリマーのin vivoでの亜硝酸捕捉効果について検討中であり併せて報告したい。

P-93 茶タンニン成分のSCE修飾作用

○佐々木 有、松村 久子、太田 敏博、白須 泰彦(残留農薬研)

昨年の本学会で緑茶および紅茶より分離されたタンニン成分が、マウス骨髄でのMMCによる小核誘発を抑制することを報告した。今回、CHOおよびヒトXP細胞を用い、その機構の解明を試みた結果を報告する。
[方法] CHOおよびXP細胞をMMCまたはUVで処理し、変異原を除き、8種の茶タンニン成分で6時間、S9存在下および非存在下で処理した。変異原処理から1細胞周期に相当する時間を経た後、染色体標本を作製、SCE頻度を計測した。

[結果] MMC、UV処理後のCHO細胞を6.7 μ g/ml以下の茶タンニン成分でS9存在下で処理したところ、8種のうち5種の茶タンニン成分はMMC、UVによるSCEの誘発を抑制した。しかし、S9非存在下で茶タンニン成分($\leq 6.7 \mu$ g/ml)の処理を行ったところ、SCEの誘発は逆に増強された。茶タンニン成分の処理濃度を20 μ g/mlとしたところ、S9の存在の有無に関わらず、SCEの誘発は増強された。このような茶タンニン成分によるSCEの修飾は、MMC処理後のXP細胞でも認められた。しかし、UV被照射のXP細胞は茶タンニン成分処理の影響を全く受けなかった。

[考察] 6.7 μ g/ml以下の茶タンニン成分は、S9活性により代謝されると考えられた。そして、代謝産物がDNA除去修復機能を活性化することで、茶タンニン成分はanti-mutagenとしての活性を示すと考えられた。同時に、茶タンニン成分は、それ自体、DNA除去修復を阻害してco-mutagenとして働くことがわかった。

P-94 緑茶中のカテキン類による in vivo 化学発癌剤誘発染色体異常の抑制

○伊藤義明¹, 藤江喜美子² (¹神戸市環保研, ²大阪女子大・基礎理学科)

我々は、本学会及び癌学会において、すでに緑茶熱湯抽出液及び緑茶より抽出したタンニン分画が、ラット骨髄細胞におけるアフラトキシンB₁(AFB₁)誘発染色体異常を抑制することを報告してきた。今回は、タンニン分画に含まれる主な成分であるエピカテキン(EC)、エピガロカテキン(EGC)、エピカテキンガレート(ECg)、エピガロカテキンガレート(EGCg)、没食子酸(GA)について検討した。また、代謝活性化を必要としない直接発癌剤であるメチルメタンсульフォネート(MMS)及びブチルニトロソウレア(BNU)によって誘発される染色体異常についても検討した。

実験は、生後4週Wistarラット雄を各群6匹ずつ用い、カテキン類及びGAを経口投与したラットに発癌剤を投与し、一定時間後に骨髄細胞を採取して染色体標本を作り、顕微鏡下で観察した。その結果は、調べた化合物のうちEGCgが最も強い抑制効果を示した。その抑制効果は、EGCgの投与量に比例し、投与時間はAFB₁投与24時間前が最も強かった。しかし、直接発癌剤であるMMS及びBNUによって誘発される染色体異常は、EGCgによっては抑制されなかった。

以上の結果から、緑茶による染色体異常の抑制は主として緑茶に含まれるEGCgによるものと思われる。また、その抑制機構としては、EGCgを前投与することによる代謝酵素の誘導の可能性が考えられる。

P-95

SOS反応の誘導を抑制する
尿中成分について

○中村 清一、小坂 博、杉浦 渉
(大阪公衛研)

我々は環境中の変異原性修飾因子の検索を行っていたが、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、その抑制作用の特性について報告した。今回はさらに尿中の有効成分を分離することを試みたので、その結果について報告する。

成人男子より採取した尿 (26 ℓ) をロータリーエバポレーターにより濃縮乾固し、クロロホルム及びメタノールで有効成分の抽出を行った。SOS反応誘導性および抑制性は umuテストにより調べた。その結果、尿の抑制効果はメタノールで抽出された分画に認められた。そこで、メタノール抽出成分を活性炭カラムおよびイオン交換カラムにより分画し、さらに有効成分の精製を試みた。その結果、尿の有効成分は比較的分子量の有機物であることがわかった。しかし、この成分は薄層クロマトによる実験では尿中の代表的な成分であるクレアチニン、尿素あるいは尿酸とは異なる挙動を示し、またクレアチニン、尿素、尿酸はAF-2のSOS反応誘導性に対して抑制作用を示さないことから、抑制成分はそれ以外の物質と考えられる。

P-96

トリハロメタンのSCE誘発と抑制

○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よる殺菌剤としての塩素注入量の増加は、トリハロメタン (THMs)生成を促進している。

我々は、前回主なTHMsである CHCl_3 、 CHCl_2Br 、 CHClBr_2 及び CHBr_3 の、*in vivo*ラットの骨髄細胞染色体異常について発表した。今回は引き続き、上の4種について *in vitro*におけるSCE誘発を指標として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製し、ガスクロマトグラフィー (SE30, 60°C)を用いて決定し、蒸留水を加えて随時希釈した。

培養細胞は神戸大学医学部病理第二教室より供与されたラット赤芽球性白血病細胞D-1に由来するD_{25-1a}を用いた。

培養はMEM (GIBCO)に15%牛胎児血清、2 μg/ml BrdU (Sigma)及び適当な濃度のTHMを加え、37°C、5%CO₂で2細胞周期+α時間インキュベートした。ハーベストの2時間前にコルヒチン処理をし、定法に従って標本作製した。

4種のTHMのうち、 CHBr_3 がもっともSCE誘発能が強く、 CHCl_3 が最も弱かった。*in vivo*染色体異常誘発能に関しては、 CHCl_3 は CHBr_3 と同等であったことから、 CHCl_3 の作用には肝酵素による代謝活性化を必要とすることがわかる。THMsのSCE誘発能はL-アスコルビン酸によって有意の抑制を受けることを見いだした。さらにカテキンの影響について実験を進めている。

P-97

ニコチン酸アミドのアルキル化剤に対する抗変異原性について

○平山晃久、渡辺徹志 (京都薬大)

演者らはN¹-alkylnicotinamideのケイ光-HPLC法による分別定量法を開発し、これを用いて健康人の尿中alkylnicotinamideを測定したところmethyl体以外にHPLCのchart上、数本の未同定ピークを確認している。これらのアルキル体が何に由来するのか興味を持たれる。即ち生体外から侵入する直接あるいは間接アルキル化剤に対してニコチン酸アミド (NiANH₂)がscavengerとなっている可能性もあり、以下の様に検討した。

MNNG, methyl methanesulfonate (MMS), ethyl methanesulfonate (EMS), MeI, EtI, dimethyl sulfate (DMS), diethylsulfate (DES), propylene oxide (PO)及びbutylene oxide (BO)をアルキル化剤として用いた。NiANH₂を用いてアルキル化剤 (1 μmol)のアルキル化能を検討したところ、NiANH₂ (200 μmol)の添加で、メチル化剤ではMMS (100%) > DMS (68%) > MeI (21%) > MNNG (20%)であった。エチル化剤ではEMS (93%) > DES (68%) > EtI (3%)の順であった。EpoxideであるPO及びBOの場合、それぞれ100%を示した。さらに各アルキル化剤に対するNiANH₂の抗変異原性効果について検討を加えた。DMSの場合、NiANH₂ 0.52 mol比の添加で活性は23%に、EMSの場合、NiANH₂ 0.18 mol比の添加でその変異原活性を46%に低下させた。またほとんどのアルキル化剤の変異原性もNiANH₂添加で減弱されたが、DESとMNNGの場合、NiANH₂の添加により逆に変異原性の増強が認められ、現在この実験について再検討している。

P-98

金属イオンによる適応応答誘導の阻害機構

○高橋和彦、今枝孝夫、川添 豊
(名市大・薬)

大腸菌を低濃度のメチル化剤の存在下で増殖させるとDNAのアルキル化損傷を修復する酵素群が誘導合成され、細胞はアルキル化剤の致死・変異誘発作用に対して抵抗性を獲得する (アルキル化剤に対する適応応答)。演者らは、金属イオンのうちカドミウムと水銀がメチル化剤による適応応答の誘導を特異的に阻害することを報告し、これら金属イオンのメチル化剤誘発突然変異に対する増強作用が適応応答の誘導の阻害によることを明らかにした。本研究では、両金属による適応応答誘導の阻害機構について検討した結果を報告する。

大腸菌K12 AB1157株を低濃度のメチル化剤で前処理してDNAのアルキル化損傷を修復する酵素群が誘導した細胞において、両金属はメチル化剤誘発突然変異を増強しなかった。また、ada遺伝子の発現の過程においてAda蛋白質の持つO⁶-methylguanine-DNA methyltransferase (MGase)活性によるAda蛋白質へのメチル基の転移反応を必要としない経路、すなわち、Ada蛋白質を直接メチル化して適応応答を誘導することが明らかにされているヨウ化メチルによるada遺伝子の発現を、両金属は阻害した。さらに、両金属は、構築的に適応応答を誘導する変異Ada蛋白質によるada遺伝子の発現も阻害した。

以上の結果より、カドミウムと水銀による適応応答誘導の阻害作用は、両金属がMGase活性を阻害するためではなく、転写レベルでada遺伝子の発現を阻害することに起因することが示唆された。

P-99

O^6 -methylguanineにより誘発された
マウス胎児毒性・主に催奇形性について

○松田洋、畔上二郎、澁谷徹

我々は、アルキル化剤により経胎盤的に誘発される胎児毒性の作用機序について研究している。これまでに、マウスの妊娠8, 10および12日に MNUあるいは ENUを投与する1時間前に、DNAの修復酵素を特異的に失活させることが知られている O^6 -methylguanine (MG)を2回(1時間間隔)投与すると、これらアルキル化剤により誘発される催奇形性が有意に増強されることを報告してきた(第18回本学会、第29回日本先天異常学会等)。そのなかで、妊娠8日におけるMG単独投与群において、胎児の骨格異常の出現頻度が増加することが認められた。

そこで今回、C3H/Heマウスを用いて、妊娠6~12日の各日にMG 110 mg/kgを1回または2回(1時間間隔)腹腔内投与し、MGのマウス胎児に対する催奇形作用について検討した。

その結果、胎児死亡率、胎児体重および胎児の外表奇形の出現頻度には、明確な時期特異性は認められなかったが、胎児の骨格異常の出現頻度に関しては、器官形成期の早期ほど高率になる傾向が認められた。このことから、MGはマウス胎児に取り込まれ、器官形成期の早期ほどDNAが修飾を受けている可能性が示唆された。

また、妊娠10日のマウス胎児における、MG投与による胎児毒性については、始原生殖細胞の突然変異や腫瘍の発生についても調べられているので、これらを含めてMGのマウス胎児に対する毒性について考察する。

P-100

Bifidobacterium のグリコシダーゼについて

○鈴木邦夫、白神伸江(理化研、動物・細胞システム)

腸内菌のあるものはグリコシドを水解する酵素をもつ。 β -グルコシダーゼはサイカシンやフラボノイドから変異原性のあるアグリコンを生じ、 β -グルクロニダーゼは肝臓で解毒されたグルクロン酸抱合変異原を脱抱合する酵素であり、いずれも発癌との関連で重要である。私どもはこれまで変異原・癌原物質の腸内生成に関する研究を行っているが、今回 *Bifidobacterium* 属のグリコシダーゼについて報告する。

Bifidobacterium は8菌種80株 (*B. bifidum* 6, *B. breve* 12, *B. thermophilum* 15, *B. adolescentis* 8, *B. longum* 6, *B. animalis* 2, *B. pseudolongum* 22) を用い、それぞれの48時間培養から生菌浮遊液を作成して酵素液とした。 β -グルコシダーゼは p-ニトロフェニール- β -グルコシドを、また β -グルクロニダーゼはフェノールフタレイン- β -グルクロニドをそれぞれ基質とし、一定量の酵素液と pH5.9 で 37°C 4時間反応させた後、アルカリ添加により反応停止および発色させて測定した。

結果として、*Bifidobacterium* の β -グルコシダーゼは8/8菌種、69/80株が陽性を示し、一方 β -グルクロニダーゼは3/8菌種、13/80株が陽性であった。前者の活性は陽性対照の *Enterococcus faecalis* とほぼ同じであり、また後者の活性は一株を除いて *Clostridium perfringens* より弱かった。

以上の結果から、*Bifidobacterium* のほとんどが β -グルコシダーゼをもち、一部の菌株が β -グルクロニダーゼを保有していることが明らかとなった。

索引・謝辞

人名索引

A

阿部 達生 P-82
 Abu-Zeid Medhat O-25
 粟飯原景昭 P-24
 会田真紀子 O- 2
 安心院祥三 P-67
 赤岩江里子 O-22
 明石 牧子 P-22, P-59
 秋山 雅行 P-10
 秋山 實利 教育講演
 青江 卓己 O- 8
 青木 豊明 P-96
 青沼 志珠 O-16
 有元佐賀恵 O- 8, O- 9, O-28
 有賀 文彦 P-67
 浅井 紀子 P-28
 朝倉 正登 P- 9
 浅倉 眞澄 P-80
 浅野 哲秀 P-67, P-68
 麻野間正晴 P- 8, P-23
 Asita, Asita O. P-55
 麻生 真次 P- 3
 青儀 巧 P-67, P-71
 畔上 二郎 P-99

B

馬場 博 O- 1, O-12
 馬場 恒夫 P-67

C

近澤 和彦 O-31
 Claxton, Larry D. P-11

E

江幡 淳子 O-29, O-30
 円藤 吟史 P-89
 遠藤 治 P-11, P-12, P-13, P-15

F

Fenech, Michael P-75
 藤江喜美子 P-94, P-96
 藤森 亮 P-38
 藤岡 栄一 P-67
 福田 裕子 P-15
 福田 一郎 P-81
 福原 潔 P-57, P-58
 福井 昭三 P-25
 福島 久雄 O-14
 降旗 千恵 O- 6, O-15, P- 2
 古郡三千代 P- 2
 古川 明美 P-64, P-72
 古川 秀之 O-29, O-30, P-60

G

後藤 純雄 P-11, P-12, P-13, P-15, P-16
 後藤 敦 P- 9
 後藤 博子 O-32

H

蜂谷 紀之 O- 2, P-50
 萩原 利行 P-54
 羽倉 昌志 O-17, P-34, P-58
 濱田 由香 O-32
 濱田 祐子 O-32
 原 正樹 P-67, P-78

原 巧 O-21, P-62, P-63, P-64
 長谷川千鶴 O-32
 長谷川雅俊 O-26
 長谷川隆一 O-24
 秦 真奈美 O- 1
 畑中 豊 P-92
 服部 千春 P- 1
 林 潤一郎 P- 3
 林 真 教育講演, O- 7, P-47, P-55, P-67, P-69, P-71, P-79
 早津 彦哉 S- 6, O- 8, O- 9, O-27, O-28, P- 5, P-22, P-59, P-61
 早津 聰子 P-22
 平野 光一 P-54, P-67
 平津圭一郎 P-30
 平山 晃久 P-25, P-97
 廣瀬美砂子 O- 3, O-4
 久松 由東 P- 6
 久岡 祥子 P-18
 菱沼 宏哉 P-41
 一ッ町晋也 P-67
 樋渡 恒憲 P-69
 本田 幸子 P-67
 本行 忠志 O-14
 堀川 和美 P- 3, P- 7, P-65
 細野 朗 P-41
 Houk, Virginia S. P-11
 法喜ゆう子 P-38
 許 南浩 P-91

I

今枝 孝夫 P-98

稲場 文男 P-40, P-41
 稲田 直実 O-28
 稲井 恒彦 P-52
 猪原 秀典 O-14
 井上 裕章 O-12
 井上みゆき P-80
 井上 由起 P-28
 石田 貴文 P-83
 石館 基 P-27
 石原 尚古 O-21, P-63, P-64, P-84
 石原 幸治 P-85
 石井 忠浩 P-16
 石井 裕 O-13
 石村 志保 P-49
 石野 正蔵 P-86
 伊藤 義明 P-94
 伊東 悟 P-1
 岩倉 啓子 P-67
 岩佐 孝 O-14
 岩瀬裕美子 P-37
 磐田 洋明 O-11
J
 實成 文彦 P-9
K
 蒲谷 京子 O-12
 甲斐麻美子 P-7
 加古ゆかり P-92
 角谷 俊文 P-59
 神谷 明男 P-8
 神谷 庄造 P-57, P-58
 姜 鎬一 P-91
 軽部 敏昭 P-76
 笠原 義典 P-67, P-70
 片岡 佳子 P-44, P-45, P-46
 片山 敬 P-15
 加藤 和子 P-37
 加藤 隆一 O-25
 加藤 哲太 O-23, P-39
 加藤 朋子 P-90
 加藤 安彦 O-11
 加藤 基恵 O-21, P-63, P-64, P-67, P-84
 川端 英樹 O-22
 河井 一明 O-29, O-30, P-60
 川上 国彦 P-31
 川村 堅 P-76
 河村 正純 P-4
 川西 正祐 S-4
 川田 敏恵 P-67
 川添 豊 P-98
 菊地 恵 O-30
 菊川 清見 O-23, P-39
 木村 美佳 P-40
 木村 修一 P-40, P-41
 木村 俊夫 P-2
 木苗 直秀 O-15, P-2
 木内 武美 P-44, P-45, P-46
 岸 邦和 P-83
 岸 美智子 P-67
 北川 義徳 P-67
 北原 昇吾 O-29, O-30
 鬼頭 英明 O-31
 小林 敬二 P-16
 小林真理子 O-12
 小林 正樹 P-40
 児玉 幸夫 P-69, P-71
 小木曾重文 P-78
 小島 一弘 O-23
 小島 基義 P-67
 近藤 耕治 P-67
 近藤 靖 P-67
 小坂 博 P-95
 小菅 卓夫 P-19
 小谷野道子 P-12, P-15, P-55
 国友 順一 P-86
 倉岡 功 P-31
 栗田未来子 P-69
 黒田 孝一 P-89
 黒川 雄二 O-24
 草壁 克己 P-3
 桑山 京子 P-17
L
 Lewtas, Joellen P-11, P-16
 李 傑 P-66, P-73, P-74
M
 前田 博 P-42
 蒔田徳太郎 P-70
 真鍋 芳樹 P-9
 松田 彰 P-59
 松田 洋 O-21, P-99
 松井 恵子 P-57
 松井 道子 P-33, P-55, P-57
 松元 郷六 P-43
 松本 寛 P-10
 松村 久子 P-93
 松岡 厚子 O-7, P-47, P-55, P-79
 松島泰次郎 O-6, O-15, P-2, P-20, P-21, P-80
 松下 秀鶴 S-3, P-11, P-12, P-13, P-15, P-16, P-55
 松浦 哲郎 P-42
 三瀬 敬治 P-77
 三浦大志郎 P-70
 宮部 正樹 P-23
 宮花 浩一 P-67
 宮前 陽一 P-67
 宮田 昌明 O-25

宮田 直樹 P-47, P-57, P-58
 宮崎 仁志 P-23
 水谷 弘雄 P-8
 望月 正隆 P-49, P-91
 森 秀樹 P-44
 森久保桂子 P-24
 森本 功 P-86
 森本 和滋 P-34
 森永 範子 P-52
 森田 昌敏 P-56
 森田 健 P-67, P-81
 Morley, Alexander A. P-75
 諸岡 成治 P-3
 村上 光一 P-7, P-65
 村岡 知子 P-18
 村田 共治 P-67
 村田 妙子 O-1
N
 長岐為一郎 P-81
 長尾美奈子 教育講演, O-3, O-4, O-16, P-19, P-26, P-92
 永瀬 久光 O-31
 永田 清 O-25
 中川 礼子 P-48
 中井 輝 P-39
 中井 康晴 O-17, P-70
 中島 栄一 P-67
 中島 裕夫 P-42
 中島 和子 P-85
 中嶋 圓 P-67
 中嶋 敏秋 P-10
 中道貴美代 P-82
 中村 清一 P-95
 中野 浩美 O-28
 中易 教江 O-16
 奈良間 功 P-42
 根岸 和雄 O-8, P-36, P-59
 根岸 友恵 O-27, O-28, P-61
 西岡 一 S-5, O-19, P-14, P-29, P-30, P-31
 野口 忠 P-80
 能美 健彦 O-17, O-18, P-27, P-32, P-33, P-34, P-55, P-57, P-58
 野村 大成 O-10, O-13, O-14, O-32
 野中美智子 P-51
 野坂 富雄 P-86
 野崎 巨右 P-80
 糠谷 東雄 P-19, P-92
 布柴 達男 O-19, P-14, P-29, P-30, P-31
O
 尾花 裕孝 O-10
 落合 雅子 O-3, O-4
 小川 美光 P-27
 小田切陽一 P-75, P-76
 小田原恭子 P-78
 尾川 博昭 O-11
 小倉健一郎 O-26
 小原 淑子 P-59
 大江 武 P-82
 大森 清美 P-57
 大西 克成 S-2, P-44, P-45, P-46
 大仁田秀和 P-1
 大島 稔彦 P-53
 太田 敏博 P-43, P-90, P-93
 大塚 雅則 P-52
 大内田昭信 P-64, P-67, P-72
 大脇 美枝 P-35, P-88
 岡田 真理 P-52
 大河内江里子 P-49
 奥田 晴宏 O-26
 奥村 中 P-44
 奥村 和夫 P-81
 大森健太郎 P-67
 小野 哲義 P-29
 小野 芳朗 P-4
 大津山 彰 O-20
 押村 光雄 P-87
 大槻 穂刈 P-69
 尾崎 清和 P-42
 小沢 重成 P-67
 小沢 正吾 O-25
Q
 権 太浩 O-2, P-50
R
 頼 春樹 O-28
 Romagna, Felix P-67
 Roschger, Paul P-40
 梁 治子 O-10, O-11
S
 佐井 君江 O-24
 斉藤 夏子 O-23
 佐治 文隆 O-13
 阪 育子 P-89
 坂部 美雄 P-23
 酒井 茂克 P-10
 酒井 芳紀 P-67
 阪本 博 P-5
 坂本 京子 P-24
 坂本 了 P-85
 鮫島 義弘 O-13
 笹川 千晶 P-21
 佐々木 有 P-67, P-93
 佐藤佳代子 O-31
 佐藤 精一 P-67

佐藤 孝彦 O-31	須藤 和勇 O-14	戸須真理子 O-20
佐藤 幸子 P-64, P-72	鈴木 昭浩 P-35	豊田 佳子 P-92
諏訪 芳秀 P-92	鈴木 洋 P-67	津田 充宥 S-1
沢田 稔 P-47	鈴木 潤三 P-17	辻 邦郎 P-19
澤田 繁樹 O-6	鈴木 邦夫 P-100	鶴井 淑江 P-80
関 良子 P-74	鈴木 静夫 P-17	
関口 睦夫 特別講演	鈴木 修三 P-67	U
関島 勝 P-67	鈴木 孝昌 O-7, P-47, P-69,	上田 享 P-59
関谷 剛男 教育講演	P-71, P-79	植島 基雄 P-67
世良 暢之 P-3, P-7, P-65	鈴木 勇司 P-66, P-73, P-74	梅村 隆志 O-24
澁谷 徹 O-21, P-62, P-63,		梅澤 高志 P-54
P-64, P-84, P-99	T	宇野 芳文 O-1
島田 弘康 P-1, P-67	只木 晋一 P-86	宇野由利子 P-56
清水 英佑 P-66, P-73, P-74	高木 篤也 O-24	浦澤 正三 P-77
霜田 恵子 P-49	高橋 和彦 P-98	牛島 俊和 O-16
下位香代子 O-22	高沢 博修 O-1	牛山 博文 P-26
新川加奈子 P-67	高寺 博史 O-14	内田 智子 P-54
篠崎久美子 O-20	高鳥 浩介 P-24	
白神 伸江 P-100	武田 啓 P-91	V
白須 泰彦 P-43, P-90, P-93	武田 祐子 P-37	Vinitketkumnuem, Usanee
祖父尼俊雄 O-7, O-17, O-18,	武居 美奈 P-57	P-20
P-32, P-33, P-34,	竹本 和夫 P-75, P-76	
P-47, P-55, P-57,	竹内 正紀 P-67	W
P-58, P-69, P-71,	滝澤 行雄 O-2, P-50	和田 和子 O-14
P-79	玉井 功一 P-67, P-69	若林 敬二 教育講演, O-3,
宗宮 功 P-4	玉起美恵子 P-53	O-4, P-19, P-26
園 明 P-35, P-88	田邊富士美 P-61	若田 明裕 P-53, P-67
孫田 信一 O-5	田辺 潔 P-12, P-13, P-15	渡部 烈 受賞講演, O-26
須藤 鎮世 P-67	田中 章男 P-86	渡辺 浩樹 P-19
杉江 茂幸 P-44	田中 和彦 O-20	渡辺佳津子 P-90
杉村 隆 O-3, O-4, O-16,	田中 憲穂 P-87	渡辺 雅彦 O-17, O-18, P-27
P-19, P-26	田ノ岡 宏 O-20	渡辺三代子 P-54
杉永 佳代 O-30	巽 紘一 受賞講演, P-38	渡辺 三恵 P-90
杉田 和俊 P-12	寺西 利之 O-19	渡辺 昌 P-76
杉浦 涉 P-95	常盤 寛 P-3, P-7, P-48,	渡辺 徹志 P-25, P-97
杉山 明男 O-1	P-65	綿矢 有佑 P-59
杉山 千歳 P-2	徳田 光男 P-82	
杉山千代美 P-67	富田 勲 O-22	

Y	山口 之彦 P-89	山崎奈緒美 P-79
八木 洋 O-10	山影 康次 P-87	山添 康 O-25
八木 君枝 P-70	山本 勝彦 P-23	安永 勝昭 P-28
山田 和正 P-14	山本 圭介 P-78	吉田 純一 P-67
山田 雅巳 P-32	山中 妙子 O-6	吉川 邦衛 O-1, O-12, P-28,
山岸 美紀 P-80	山下みつ子 O-15, P-2	P-37
	山下 智子 P-53	吉武 彬 P-78

化学物質名等索引

A

2-AAFP-67
 2-AcetylaminofluoreneP-68
 AcetyltransferaseO-18
 Acidic pHP-81
 AcridineP-13
 Acridine orangeP-31
 Active oxygen.....O-30, P-29, P-30, P-31
 Adriamycin.....P-84
 AF2O-30
 Aflatoxin B1P-94
 Airborne particulate matterP-65
 Alcohol sulfateO-13
 Aluminum clofibrateO-24
 9-AminoacridineP-54
 2-AminoanthraceneP-28
 4-Aminoazobenzene.....O-25
p-Aminobenzoic acidO-25, P-92
 2-AminofluoreneO-27, P-28
N-(Deoxyguanosin-8-yl)-1-aminopyrene.....P-45
 安息香酸ナトリウムP-51
 Ara-eP-67
 アスコルビン酸P-51
 亜セレン酸P-30
 6-Azabenz(a)pyreneP-58
 8-AzaguanineP-33

B

BenzamideP-38
 BenzanthronP- 6
 BenzeneP-67
 Benzo(a)pyreneO-27, P-10, P-17, P-58,
 P-65, P-67, P-73, P-80, P-88
 6-Hydroxymethyl-benzo(a)pyreneO-26

6-Hydroxymethyl-benzo(a)pyrene sulfate
O-26
 BHAP-37
 BifidobacteriumP-100
 BleomycinP-73, P-75, P-76
 Blue cottonP-18
 Blue rayonP- 4, P- 5, P-25
 BromodeoxyuridineP-88
 BromoformP-96
 BurdockO-30
tert-ButylquinoneP-47

C

Cadmium chlorideP-98
 CatalaseP-41
 茶タンニンP-93
 ChlomethoxinilP-89
 ChlorambucilP-32
 ChlornitrofenP-89
 ChloroformP-96
 ChlorophyllinO-27
 ChrolineP- 3
 Cigarette tarP-55
 Clofibrate.....O- 1, P-37
 Cobalt(II)chlorideO-11
 CoffeeP-39
 ColcemidP-87
 Coriander seedP-20
 Cre-P-1P-19
 CreatineP-19
 CreatinineP-19, P-95
 Cyclophosphamide.....P-63, P-71, P-78, P-80
 シス테인抱合体P-46
 Cysteine conjugate β -lyaseP-46

D

デヒドロ酢酸ナトリウムP-51
 DEHPP-37
 DeoxyguanosineO-23
 Deoxyribonucleic acidO- 8
 DialkylnitrosamineO- 9
 2, 7-DiaminophenazineP-25
 2, 6-DiaminopurineP-38
p-DiazoquinoneO-23
o-DiazoquinoneO-23
 Dibenz (a, h) acridineP-13
 DibromochloromethaneP-96
 DibutylnitrosamineP-62
 DicentrineP-86
 DichlorobromomethaneP-96
 ディーゼル排ガス粒子P-14
 ディーゼル粉じん抽出物P-13
 DiethylstilbestrolO- 1, P-87
 2, 8-DihydroxyadenineP-38
 7, 12-Dimethylbenz(a)anthracene.....P-69
 1, 2-DimethylhydrazineO- 2, P-50
 DimethylnitrosamineO-29, O-30
 5, 5-Dimethylpyrroline-N-oxideO-29
 Dimethylsulfate.....P-97
 Dinitropyrene.....P-57
 Dinitrobenzo(a)pyrene.....P-57
 3, 6-Dinitrobenzo(a)pyrene.....P- 7
 3, 7-DinitrofluorantheneP- 7
 3, 9-DinitrofluorantheneP-48
 1, 3-DinitropyreneP- 7, P-27
 1, 6-Dinitropyrene.....P-60
 1, 8-Dinitropyrene.....P-60
 DipeptidesP-53
 DNAO-23
 DNA 付加体.....P-45
 1, 8-DNP strainO-18
 DomesticineP-86

E

N-Nitroso-*N*-(hydroxymethyl) ethylamine
P-91
 ENUP-90
 Epigallocatechin gallateP-94
 D, L-EthionineO- 1
 Ethyl alcoholP-41
 Ethyl methanesulfonateP-52, P-88
 EthylenethioureaP-62
 EthylnitrosoureaP-52
 Etoposide.....P-82

F

Fenton 試薬.....P-49
 5-FluorodeoxyuridineP-64
 5-Fluorouracil.....P-64, P-73
 5-FluorouridineP-64
 Fruits juiceP-18
 3-Chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5*H*)-
 furanoneO-15, P- 2
 FurylfuramideP-54, P-95
 フタル酸エステル類 (PAEs).....O-31

G

GarlicP-20
 β -グルコシダーゼP-100
 β -グルクロニダーゼP-100
 Glutathione peroxidaseP-29
gpt.....P-33
 Greater galangalP-20
 Green teaP-94
 Guanine phosphoribosyl-transferaseP-33
 GuanosineO-23
 Guanosine-5'-phosphateP-97

H

$H_2PtCl_6 \cdot 6H_2O$ P-56

HarmanP-26
 HistidineP-53
 Humic acidP- 3
 Hydrogen peroxideP-47
 3-*tert*-Butyl-4-hydroxyanisole(BHA)P-47
 8-HydroxydeoxyguanosineO-24
 Hydroxyl radicalO-29

I

ICR-170P-54
 IQO- 6, O- 9
N-Hydroxy-2-amino-6-methyldipyrido[1, 2-*a*:3', 2'-*d*]imidazole(*N*-OH-Glu-P-1)O-25
 Indole derivativeP-21
 Indole glucosinolateP-21

J

樹木葉P-17

K

K_2PtCl_4 P-56
 過酸化水素P-29, P-30, P-51
 近紫外光O- 9, P-61
 米糠P-22
 コショウP-24
 空気浮遊粒子P-15, P-16

L

Leech limeP-20
 LiriodenineP-86
 LuminolP-41

M

ManebP-90
 Manganese(II) chlorideO-11
 MeIQO-22
 MeIQxO- 3, O- 4, O- 6, O-22
 MenadioneP-47

Mercury(II) chlorideP-98
 MethotrexateP-70
 8-MethoxypsoralenP-61
 Methyl iodideP-98
 Methyl methanesulfonateP-52, P-94, P-97
 Methyl viologenP-29, P-30
 O⁶-MethylguanineP-99
 MethylnitrosoureaP-52
 Mitomycin CO- 5, O- 7, P-35, P-54, P-65, P-71, P-73, P-76, P-77, P-78, P-80, P-87, P-88, P-93
 MMSO-10, P-67
 MNNGO-19, P-90
 MNUP-90
 MXP- 2

N

NarcotineP-72
 ナツメグP-24
 Natural soapO-13
 ニコチンアミドO-32
 ニコチン酸アミドP-97
 NitroareneP-17, P-57
N-Butyl-*N*-NitrosoureaP-94
 NitriteP-22, P-92
 1-Nitro-6-hydroxypyreneP-44
 Nitro-IQO- 6
 4-NitrobiphenylP-17
 3-NitrofluorantheneP-48
 2-NitrofluoreneP-27
 NitrofurantoinP-28
 Nitrogen dioxideP- 6
 1-NitronaphthaleneP-27
 2-NitronaphthaleneP-27
p-NitrophenyladenineP-59
 1-NitropyreneP-10, P-14, P-27, P-44, P-45, P-46, P-48, P-60
 1-Nitropyrene-4, 5-oxideP-44, P-45, P-46

1-Nitropyrene-9, 10-oxideP-44, P-45, P-46
 4-Nitroquinoline-1-oxideP-28
 4-Nitroquinoline-*N*-oxideO-27
 NitroreductaseO-18
N-NitrosodialkylamineP-91
N-ニトロジアルキルアミンP-49
N-NitrosodimethylamineO-27
N-NitrosoethylureaP-91
N-Methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidineO-15, P-28, P-40, P-52, P-77, P-97
N-NitrosomorpholineO- 8
N-NitrosopiperidineO- 8
N-NitrosopyrrolidineO- 8
N-Ethyl-*N*-nitrosoureaO-21
 1-Butyl-1-nitrosoureaP-74
 1-Ethyl-1-nitrosoureaP-74
 NorharmanP-26
 NR strainO-18
 尿P-95

O

Okadaic acidO-16
 OxadiazoneP-89
 OzoneP- 3, P- 4

P

Pan-fried chickenP-18
 パブリカP-24
 Perfluorooctanoic acidO-24
 PeryleneP-17
 Phenobarbital sodiumP-37
m-PhenylenediamineP-25
N', *N'*-Diphenyl-*p*-phenylenediamineP-79
N', *N'*-Di-2-naphthyl-*p*-phenylenediamineP-79
 PhotonP-39
 Di-(2-ethylhexyl)phthalateO-24, O-31

Mono-(2-ethylhexyl)phthalateO-31
 PlumbaginP-29, P-30
 PodophyllotoxinP-87
cis-Pt(NH₃)₂Cl₂P-56
 Pt(en)Cl₂P-56
 PyreneP-44

R

ResorcinolP-85
 Roemerine • HClP-86
 RotenoneP-43

S

SafroleO- 1
 染毛剤P-25
 Sep-pak C₁₈P- 4
 EAH-Sepharose 4BP-92
 Thiopropyl-Sepharose 6BP-92
 ShallotP-20
 ShimazineP-89
 SimetrynP-89
 SimfibrateO-24
 Singlet oxygenP-39
 Smoke extracts from different woodsP-55
 Sodium azideP-41, P-54
 Sodium fluorideP-66, P-83
 SteporphineP-86
 SulfotransferaseO-26
 Superoxide anion radicalO-29
 Superoxide dismutaseP-41

T

大気中ガス状物質P- 8
 大気中粒子状物質P- 9
 大気浮遊粉じんP-10, P-11, P-12
 太陽光P-36
 Tannic acidO- 1
 タール色素P-31

天然添加物P-23
 TetrapeptideP-53
 テトラフェニルポルフィリン鉄錯体P-49
 鉄クロリン e_g-NaO-28
 ThiabendazoleP-72
 ThioureaO-8
 TN-16P-43
 TPAP-37
 TripeptidesP-53
 Trp-P-1O-22, O-30, O-31
 Trp-P-2O-22, O-31
 Trp-P-2(NHOH)O-28
 Trp-P-2(NO)O-28

U

umu CO-17
 umu DO-17
 UreaP-95

UrethaneO-10, O-14, O-32, P-42, P-74
 Uric acidP-95
 UVO-22, P-35, P-88, P-93

V

VegetablesP-18
 VincristinP-73
 Vincristine sulfateP-87
 Vitamine CO-32

X

X-rayP-75, P-76
 XAD-2P-4

Z

Zinc chlorideO-11
 ZiramP-90

日本環境変異原学会大会記録

回数	開催場所	会期	世話人	演題数 ()内合計
第1回 (講演会)	国立教育会館 (東京)	S.47. 8. 21	田島弥太郎	O13
第2回 (研究発表会)	国立遺伝学研究所 (静岡)	S. 48. 9. 22	田島弥太郎	O17
第3回	東京医科歯科大学 (東京)	S. 49. 9. 28	外村 晶	O23
第4回	同志社大学 (京都)	S. 50. 9. 26-27	菅原 努	O30
第5回	東大・医科研 (東京)	S. 51. 10. 26	杉村 隆	O39
第6回	武田薬品研修所 (大阪)	S. 52. 9. 16-17	近藤 宗平	O51
第7回 (学会に改組)	国立遺伝学研究所 (三島)	S. 53. 10. 19-20	賀田 恒夫	O50
第8回	箱根観光会館 (箱根)	S.54. 11. 27-28	岩原 繁雄	O75, P5 (80)
第9回	岡山県総合福祉会館(岡山)	S. 55. 11. 28-29	早津 彦哉	O46, P59 (105)
第10回	東条会館 (東京)	S. 56. 12. 3-4	石館 基	O42, P31 (73)
第11回 (大会に改名)	修善寺町総合会館(修善寺)	S. 57. 10. 29-30	黒田 行昭	O49, P53 (102)
第12回	徳島大学・医学部 (徳島)	S. 58. 10. 28-29	大西 克成	O43, P76 (119)
第13回	農協ビル (東京)	S. 59. 10. 12-13	白須 泰彦	O37, P75 (112)
第14回	秋田県生涯教育センター (秋田)	S.60. 9. 30-10. 1	滝沢 行雄	O43, P72 (115)
第15回	社会文化会館 (東京)	S. 61. 10. 1-3	松島泰次郎	O34, P77 (111)
第16回	京都会館 (京都)	S. 62. 10. 27-28	西岡 一	O34, P91 (125)
第17回	日本教育会館 (東京)	S. 63. 11. 4-5	長尾美奈子	O35, P76 (111)
第18回	こまばエミナース (東京)	H. 1. 11. 21-23	松下 秀鶴	O34, P92 (126)
*第19回	都久志会館 (福岡)	H. 2. 10. 29-31	常盤 寛	O32, P100 (132)

創造と
探究の
コミュニティ

Creative Research Community



◇臨床検査全般

診療所、病院の委託検査

◇健診事業

学校、事業所の健康診断業務

◇食品環境衛生検査

食品分析、公害分析

◇保険事業

ガン・痴ほう介護保険
各種損害保険

◇メディカル事業

医療機器、器具、臨床診断
試薬、ホルター心電図解析、
循環器製品

(ペースメーカー人工肺)
(人工心臓弁、その他)



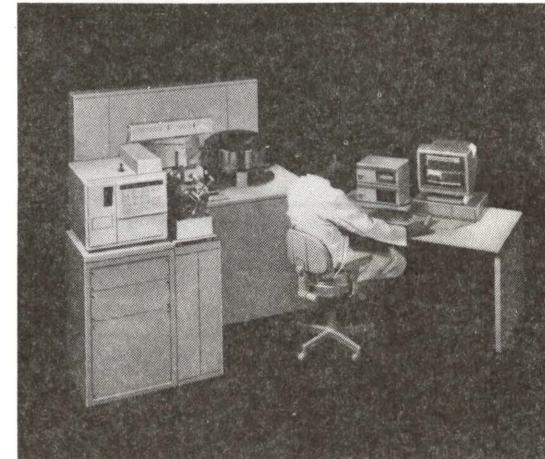
本社 〒815 福岡市南区長丘2丁目1番4号
電話(092)511-5821(代) FAX(092)511-5036
中央研究所 〒813 福岡市東区松島3丁目29番18号
電話(092)623-2111(代) FAX(092)623-4270

(営業所)
福岡中央、福岡東、福岡西、
福岡南、久留米、北九州、
佐賀、武雄、熊本、長崎、
筑豊、大牟田、杵岐、大分、
鹿児島、沖縄

MAT 95



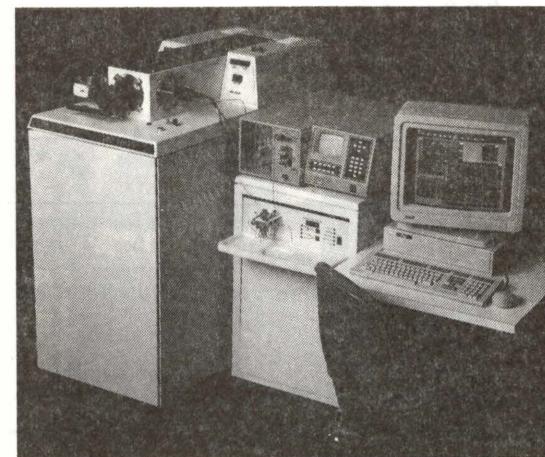
高性能二重収束質量分析計



- 完全コンピュータコントロールによる高性能二重収束質量分析計です。
- 20kVコンバージョンダイノード付検出器により、高い感度を得ることができます。
- フィールドプローブ磁場キャリブレーションにより、スキャンスピード、スキャンモード、あるいは正負イオンを切り替えても再キャリブレーションの必要はありません。
- 装置コントロール用言語(ICL™)により操作は簡単です。
- DEC station 2100を採用し、データ処理の効率化およびコンピュータネットワークへの対応がより充実しました。

TSQ®700

トリプルステージ四重極型MS/MSシステム



- MS/MS法により選択性の向上、混合物の迅速な分析、構造解析が容易にできます。
- オクタポールコリジョンセルによりMS/MSの再現性がさらに向上しました。
- 多彩なソフトイオン化モード(TSP、FAB、ESP、DCI)により生物化学の分野まで広いアプリケーションに対応できます。
- 完全コンピュータコントロール(ICL™)により、操作は簡単です。
- コンピュータネットワーク(Ethernet、TCP/IP)が標準装備されています。

詳細は下記にお問い合わせ下さい。



フィンガン・マツ・インスツルメンツ・インク

東京都千代田区平河町2-7-1 塩崎ビル
〒102 ☎03(221)1001(代)
大阪市西区土佐堀1-5-11 土佐堀1-Nビル
〒550 ☎06(448)4601

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	⑤	ブルーコットン(青綿)	5g	5,600	BC-001
	CB-0200-02			5g×5	26,000	BC-002

製造元 住友化学工業株式会社

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・分離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	⑤	BLUE RAYON ブルーレーヨン	5g	4,800	BR-05
	DW-0000-25			5×5g	22,000	BR-25

製造元 ダイワエンジニアリング株式会社

*詳細については、下記宛にお問い合わせください。

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/研究試薬部・研究機器部 ☎03(293)2352(代表)・研究開発部技術情報課 ☎03(295)5548(直通)

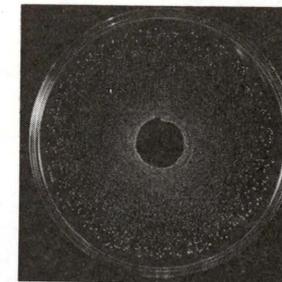
VISION TO BIOTEC

GUNZE SANGYO,

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、10²~10⁵/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〉

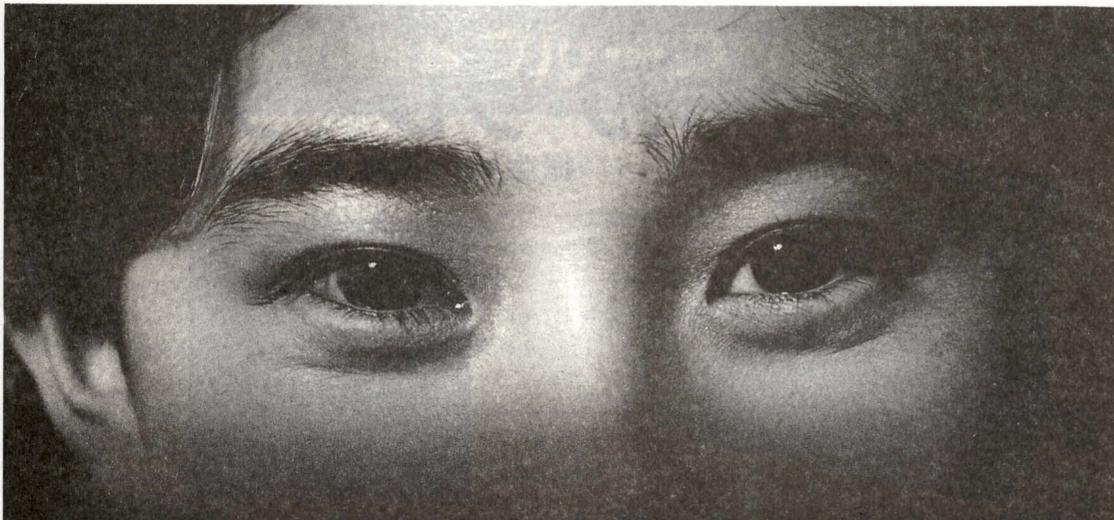
- ①透過力の強いレーザー光線を使用し、測定には高い識別力と再現性を実現。
- ②スパイラル・プレーターとの組合せで、コロニー計測と菌濃度の決定が正確、迅速に可能。
- ③Ames Test ソフト、スパイラル法用ソフトに加え種々のソフトが開発されました。
- ④各計測ごとに、培地の透過度を自動補正、さらに記憶回路によってコロニーの重複カウントを防止。
- ⑤専用データ処理ソフトにより、データの表整理やグラフ化が簡単に行えます。
 - SAL-P……エイムス・テスト用ソフト
 - SAL-S……スパイラル・サルモネラ試験用ソフト
 - BEL……生菌数測定用ソフト
 - PET……保存剤効果試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

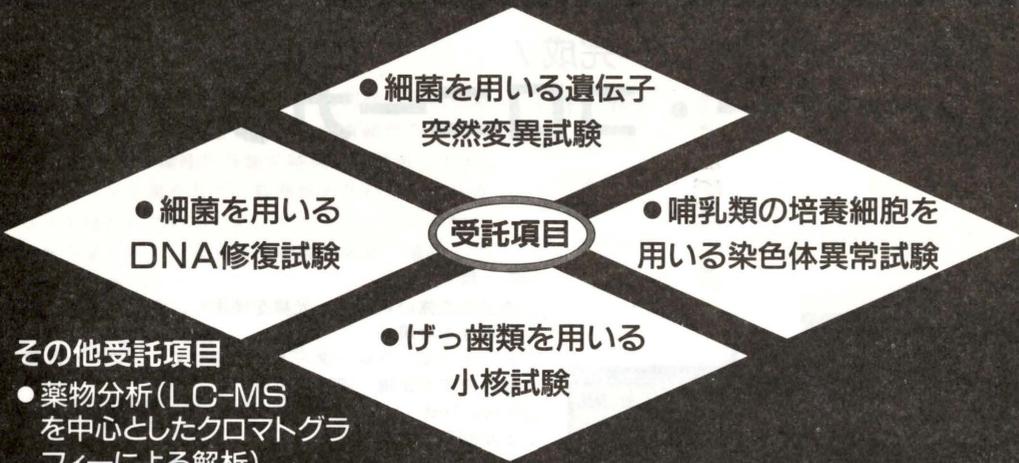
〒101 東京都千代田区神田錦町3-17 ☎03-294-4196

〒540 大阪市中央区大手前1-7-31 OMMビル ☎06-944-2623



変異原性試験受託

保健科学研究所は、長年の臨床検査の経験と信頼を基に
各種GLPに準拠した設備および信頼にお応えする確かなデータを提供します。



●資料請求および詳しいお問い合わせは、下記をお願いします。

保健科学研究所 技術開発センター
安全性部門 変異原性試験室

〒240 横浜市保土ヶ谷区神戸町106(本社)
横浜市保土ヶ谷区天王町2-44-9
☎045-333-1661 / (代表)
☎045-333-1640 / (直通) 担当/玉井

新発売 マジスキャンシリーズ

ジェミニ

二次元・三次元 電気泳動の分析
ヒストグラム表示・自動マッチング

Images can be displayed in monochrome or false colour. Images can be produced from a pair of 16 colour and animated with variable speed and direction. Specific cultured cell concentrations can be coloured in distinguishable ways.

INTEGRATION FILTER WHEEL
INTENSIFYING CAMERA
IMAGE ANALYSER
INVERTED MICROSCOPE
USER
CONTROL

マジカル

細胞内Ca²⁺/Na⁺/pH・
その他のイオン分析
ホイルフィルターチェンジャーが
各種の染料への対応を可能に

マジスキャン

分裂細胞の自動検出/核型分析などの
染色体分析
高速スキャンと鮮明なレーザーハードコピー

日本総代理店 **アイ・エム・アイ株式会社**

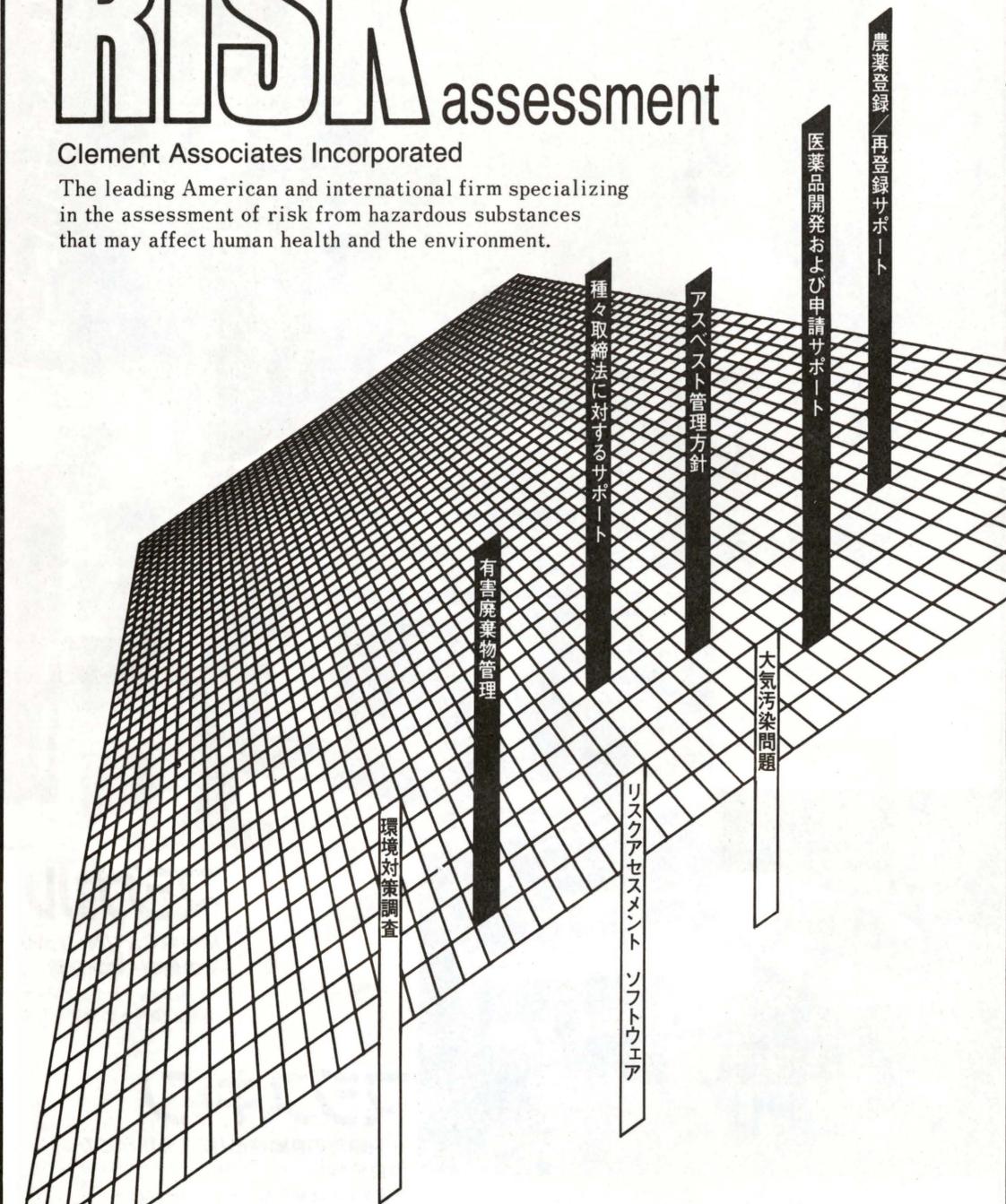
本社/埼玉県越谷市流通団地3-3-12 〒343 ☎0489(88)4411 東京/03(816)4411
横浜/045(316)1119・静岡/0542(55)1278・名古屋/052(703)7781・大阪/06(385)5205・福岡/092(473)1871・熊本/096(359)7666

CLEMENT

RISK assessment

Clement Associates Incorporated

The leading American and international firm specializing in the assessment of risk from hazardous substances that may affect human health and the environment.



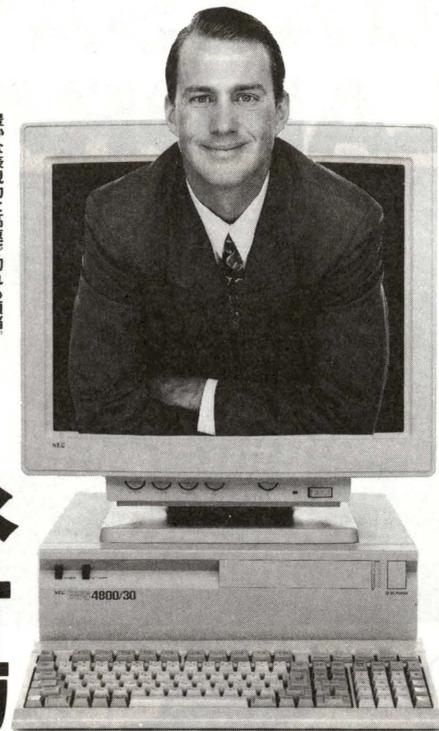
KASHO 加商株式会社 物資部

〒103 東京都中央区日本橋2-14-9 ☎(03)276-7673・7674

C&C Computers and Communications

NEC

スーパー ステーション 主・戦略機



豊かな表現力と高速で切れる論議。現行CISCプロセッサモデルとの完全互換を実現し、快適な開発環境も完備。もちろん豊富なソフトも活かせる。夢にあかれた現代のテクノロジーをサポートするために生まれたEWS4800/30一歩先する1台。

登場。

UNIX System V R4.0(RISCプロセッサモデル)をはじめ、最新版 X Window V11 R4 マルチメディア構築ツール「鼎(かなえ)」による開発環境の完備など最先端のソフトを提供。



新発売

EWS 4800/30

CPUに現行CISCプロセッサモデルと完全互換のMC68030(50MHz)を採用し、12MIPSの高性能と30万ショートベクトル/秒(ハードウェア性能)の高速グラフィックスをコンパクトなボディに実現。MC68040へのフィールドグレードアップなど、ユーザーの創造力をさらに深く、高度に変えていきます。



好評発売中

EWS 4800/220

最新鋭RISCプロセッサR3000(30MHz)を採用し、デスクトップモデルで世界最高速の30MIPSと7.6MFLOPS(単精度)、40万ショートベクトル/秒(ハードウェア性能)を達成。最先端の業界標準に強力なクリエイティブ環境を提供しています。



好評発売中

EWS 4800/260

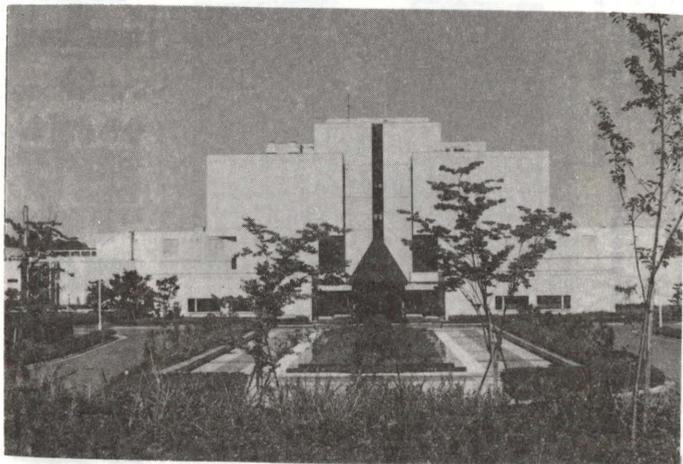
CPUに最新鋭RISCプロセッサR3000(33MHz)を搭載し、シリーズ最強の33MIPS、8.4MFLOPS(単精度)と40万ショートベクトル/秒(ハードウェア性能)の超高性能。1670万色のフルカラー表示、最大384Mバイトのメモリなど、より拡張性に富んだクリエイティブ環境を実現するスーパーステーションの最高峰モデルです。

NECスーパーステーション

日本電気株式会社

製品に関するお問い合わせ、カタログ請求は 情報処理OAシステム事業部ワークステーション部 東京都港区芝5丁目7-1 専用郵便番号108-01 TEL(03)798-6288(ダイヤルイン) 今、資料請求された方にもれなく、製品の特長、利用例などを載せたAPソフトガイドブックを差しあげます。

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
- 亜慢性（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

● その他

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)

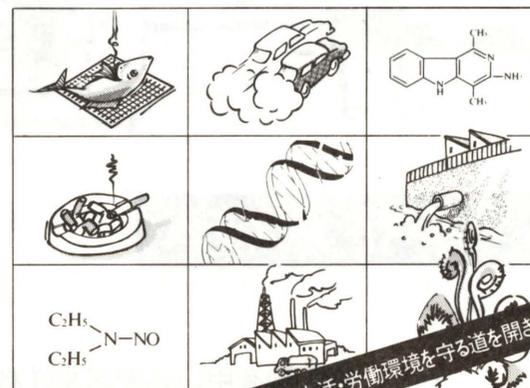
試験についてのお問い合わせは、企画調整部企画課(内線205・207)まで。

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。



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

Amesテスト及び発癌性試験との比較

被験物質	ウムラック	Ames-テスト	発癌性
Aflatoxin B ₁	+	+	+
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+)

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

お問い合わせは下記にお願いします。

製造・発売元

**大塚
アッセイ
研究所**
大塚製薬株式会社 診断事業部

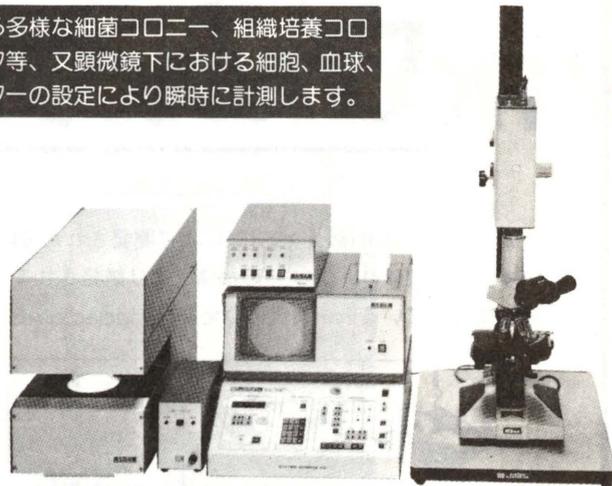
札幌営業所 ☎011 (271) 5871 (代)	大阪営業所 ☎06 (441) 6101 (代)
仙台営業所 ☎022 (272) 4300 (代)	徳島営業所 ☎0886 (65) 3340 (代)
東京営業所 ☎03 (342) 7871 (代)	広島営業所 ☎082 (294) 9278 (代)
名古屋営業所 ☎052 (951) 1891 (代)	福岡営業所 ☎092 (271) 6689 (代)
富山営業所 ☎0764 (91) 1451 (代)	

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

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、プラーク等、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	検査物質濃度 (#9/プレート)	質変異数(コロニー数/プレート)		
		TA 100	TA 1535	WP2uvrA
S9Mix	濃度芽原	149 161 (155)	20 30 (25)	25 27 (26)
	1.56	164 142 (153)	25 27 (26)	30 19 (25)
	3.13	160 162 (161)	18 20 (19)	40 35 (38)
	6.25	130 135 (133)	13 17 (15)	37 34 (36)
	12.50	110 120 (115)	12 13 (13)	17 20 (19)
	(-) 2500	130 137 (134)	15 17 (16)	15 18 (17)
S9Mix	5000	0* 0*(0)	0* 0*(0)	20 25 (23)
	()	()	()	()
	濃度芽原	181 199 (190)	11 15 (13)	31 27 (29)
	1.56	202 171 (187)	13 11 (12)	30 26 (28)
	3.13	196 210 (203)	15 16 (16)	30 35 (33)
	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

SSC 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 1 2 5 3 - 1 6
TEL 0 4 2 5 (52) 5 9 5 6 (代表)

SANKO **BIO**

クリメティア AM培地

本培地は労働省化学物質調査課編のガイドブックに従って調製された微生物を用いる突然変異原性試験(エームステスト)に使用する最少グルコース寒天培地の生培地です。

■特長

- 本培地はGMP適合工場で最高の品質の原料を用いて量産しています。
- 製品は厳しい品質管理を行なっています。常に均一な培地をいつでもご利用いただけます。
- 放射線滅菌したシャーレ、ポリ袋を使用しています。
- 室温(15~25℃)暗所保存で6ヶ月間安定です。

■組成および製法

- A. 硫酸マグネシウム・7水塩 0.2g
クエン酸・1水塩 2g
リン酸二カリウム・無水塩 10g
リン酸水素アンモニウムナトリウム・4水塩 3.5g
蒸留水 200ml
- B. ブドウ糖 20g
蒸留水 100ml
- C. カンテン(OXOID Agar NO.1) 15g
蒸留水 700ml
- 上記組成のA、B、Cそれぞれを高圧蒸気滅菌し、60℃に冷却して混合する。これを放射線滅菌したシャーレに30mlずつ分注、凝固させる。

クラボウ 薬物生物活性定量の分析キット

NeutralRed

BIOASSAY ニュートラルレッド・バイオアッセイ

ニュートラルレッド・バイオアッセイは、ニュートラルレッド(水溶性染料)の取り込み総量が生細胞の数に比例することから、テスト試薬で処理した培養正常ヒト表皮角化細胞(NHEK)に取り込まれたニュートラルレッドを定量するキットです。動物実験代替法として、薬物の活性毒性のインビトロでの評価に大変有効です。

■特長

- 薬物の活性(毒性・増殖促進作用)をNR-50値として定量的にランク付けできる。
- 正常ヒト細胞のためデータの信頼性が高い。
- 無血清培養系のため感度が高い。
- プレートリーダーの利用により半自動的測定が迅速にできる。
- ラジオアイソトープを必要とせずに、生細胞を定量できる。

■用途

- 皮膚刺激試験。
- 眼粘膜刺激試験(ドレース試験代替法)。
- 薬物、増殖因子の増殖促進効果の研究。

組織培養用チャンバー ウルトラクロン・グロース・チャンバー(UGC-400)

- 新タイプの組織用チャンバー
- 癌細胞・リンパ球を選択的に増殖ノ

ウルトラクロン・グロース・チャンバー(UGC)は、不活性高分子化合物でできた軟質、液体浸透性の組織培養用のチャンバーです。

この新チャンバーは、軟寒天コロニー法と同様、正常線維芽細胞など足場依存性細胞の増殖を支持せずに癌細胞やリンパ球のみを選択的に増殖させるよう考案されています。標準的な組織培養液のどれを使っても実験が可能で、しかもプラスコ培養では得られない数多くの利点があります。

■UGC応用例

- 抗癌剤感受性試験(UOSS)法
- 哺乳類癌細胞の増殖
- 細胞分泌物の小規模生産
- 異なる細胞のco-culture
- 腫瘍浸潤性リンパ球(TIL)の培養
- ハイブリドーマの継代
- 培地添加物の薬理研究
- 体外成育癌細胞塊の形態学的及び生理学的研究
- 足場依存性細胞のマイクロキャリアへの付着促進
- リンパ球機能の測定

※ 詳細については、下記までお問い合わせ下さい。

発売元

三光純薬株式会社

〒101 東京都千代田区岩本町1-10-6 TMMビル
PHONE.03(863)3261 FAX.03(862)3079
大阪支店 〒532 大阪市淀川区宮原5-8-5
PHONE.06(391)2501 FAX.06(396)6488

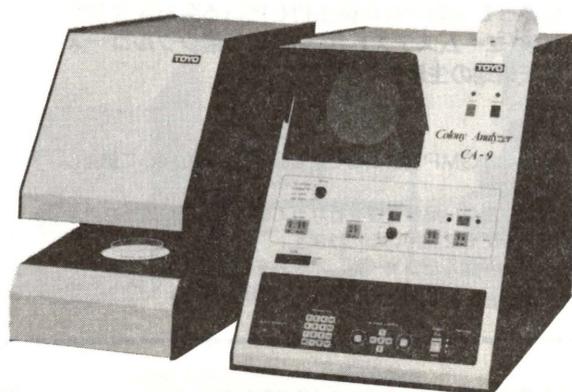
コロニー測定に威力を発揮するTOYOのテクノロジー

CA-9 COLONY ANALYZER SYSTEMS

通常シャーレ内のコロニー等(0.15mmφ以上の検体および阻止円)を測定します。

特長

- 大きさ及び色の濃淡による検体の分類
- 検体の面積・長さの測定
- 測定エリアが自由に設定できる
- あらゆる試料に対応
反射・透過・暗視野の3種の照明を内蔵
- お手持の顕微鏡がセットできるマイクロシステムにより、マイクロ検体も測定できます。



CA-9A(マクロシステム)

オプション

〈ハードウェア〉

- 高倍率レンズ(0.06mmφから測定可能)
- インターフェース
- MIC測定ユニット
- その他

〈ソフトウェア〉

- 変異原処理プログラム
- VC(生菌数測定)処理プログラム
- 真核微生物処理プログラム 他

PC-10 COLONY COUNTER



コロニーカウント専用とすることで、小型・低価格を実現したコロニー自動計測装置です。

通常のプラスチック90mmφシャーレ内寒天培地上のコロニーを測定対象とし、測定データを表示すると共にプリントアウトします。インターフェース内蔵なので、パソコンへのデータ送出手が可能です。

サルモネラ菌・大腸菌等のバクテリアのコロニーカウントに最適です。

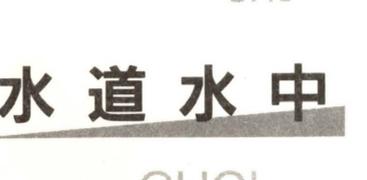
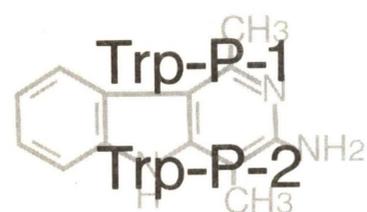
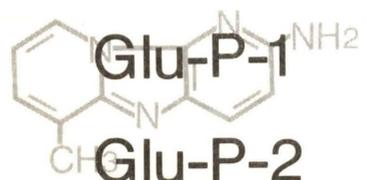
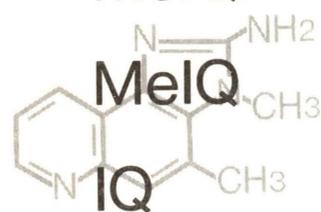
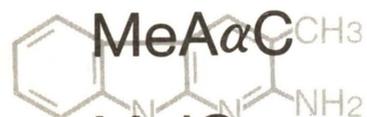
※詳細は下記へお問い合わせ下さい。

TOYO 東洋測器株式会社 〒169 東京都新宿区高田馬場1-34-8大輝ビル
TEL.(03)209-0425(代表)FAX.(03)209-9807

新規 変異原・癌原性標品

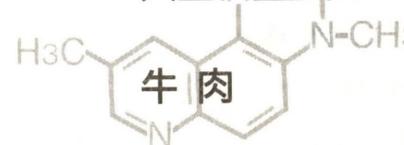
加熱食品中

化合物略名

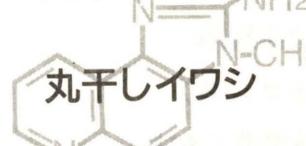


加熱材料

大豆グロブリン



丸干しイワシ



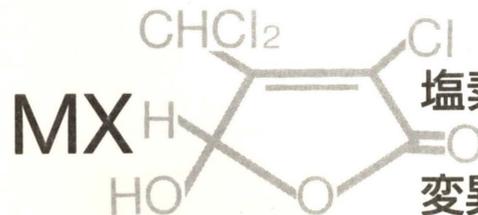
L-グルタミン酸



DL-トリプトファン



水道水中



塩素処理された水道水から検出

変異原性の強さは、AF2に匹敵

和光純薬工業株式会社

本社 大阪市中央区道修町三丁目1番2号
〒541 電話 大阪(06)203-3741(大代表)
東京支店 東京都中央区日本橋本町4丁目5番13号
〒103 電話 東京(03)270-8571(大代表)
出張所 福岡・広島・名古屋・横浜・大宮・筑波・仙台・札幌

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

三光純薬(株)

白井松器械(株)

正晃(株)

(株)ニコン

日本ベクトン・ディッキンソン(株)

日立冷熱(株)

フナコシ(株)

和光純薬工業(株)

(50音順)

環境変異原研究

第12巻 第2号 1990年

平成2年10月10日 印刷

平成2年10月10日 発行

発行者 日本環境変異原学会

編集責任者 常盤 寛
福岡県衛生公害センター
〒818-01 太宰府市大字向佐野字迎田 39
TEL 092-924-2101 内22

印刷所 三造写真工業株式会社
〒105 東京都港区新橋 5-23-7
TEL 03-433-1869

ISSN 0910-0865