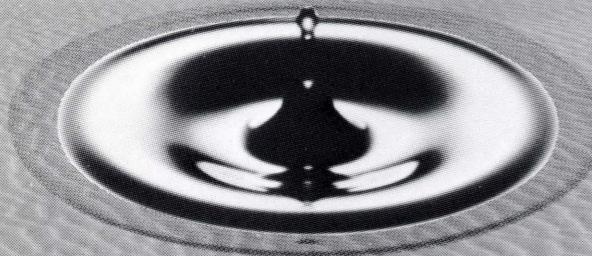


環境変異原研究

Environmental
Mutagen
Research
Communications

日本環境変異原学会
(EMS Japan)
第20回大会 (東京)
抄録集

永年にわたりご信頼をいただいている
ニッスイの組織培養用培地を
ready-to-useでお届けします。



- ニッスイの組織培養用液体培地はすべてGMP適合工場の最新設備で製造されています。
- L-グルタミン、炭酸水素ナトリウムも含んだ液体培地なので開栓後すぐに使用できます。*
- バイロジエンフリーの超純水を用いて製造しています。
- 培地調製後短時間のうちに0.1μmのフィルターを使用し、ろ過滅菌しています。
- 容器にはNalge社製角型PETG**プラスチックボトルを使用しています。

* 目的に応じて適量の血清を加えて下さい。 ** 非結晶性PET樹脂



製造発売元
日本製薬株式会社
〒170 東京都豊島区巣鴨2-11-1

お問い合わせは
フリーダイヤル
0120-411200

▲上記以外の培地および各種粉末培地のバルク供給などについても、ご相談をお受けいたします。上記へお問い合わせ下さい。

日本環境変異原学会 (EMS Japan)

第20回大会

1991・東京

日本環境変異原学会第20回大会組織委員会

〒192-03 東京都八王子市堀之内 1432-1
東京薬科大学・第二衛生化学教室
TEL. 0426-76-5111 (内線 403)

内案御

- 会期 1991年11月6日(水)~8日(金) 3日間
 - 会場 日本教育会館(一ツ橋ホール)
3階ホール(口演), 8階会議室(示説)
〒101 東京都千代田区一ツ橋2-6-2
TEL 03(3230)2831~4 FAX 03(3230)2834

【会場周辺図】



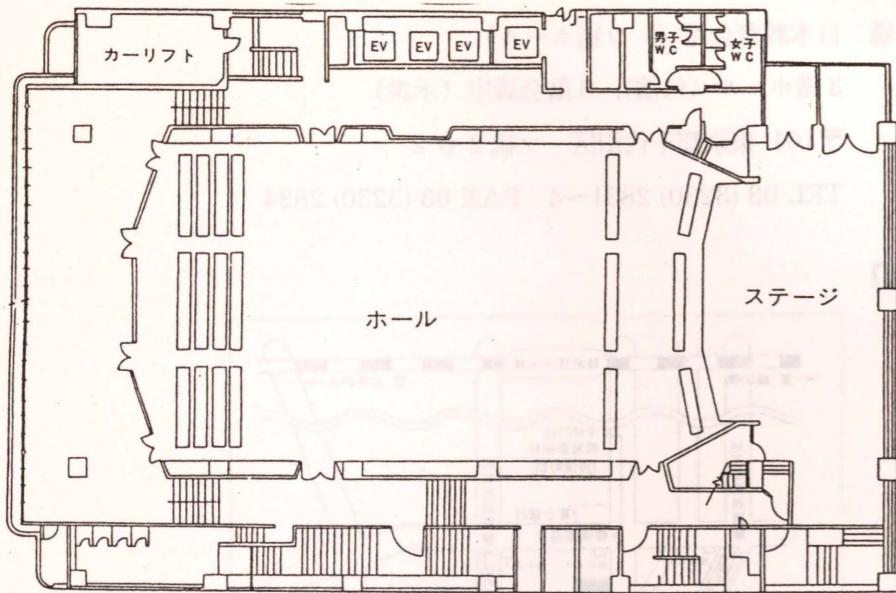
[利用交通機関]

- 地下鉄東西線九段下駅（出口6）・竹橋駅（北の丸公園方面出口）下車
徒歩5分
 - 地下鉄三田線神保町駅（出口A6・A8）下車徒歩5分
 - 地下鉄新宿線神保町駅（出口A1）下車徒歩5分
 - 地下鉄半蔵門線神保町駅（出口A1）下車徒歩5分
 - 銀座線・有楽町線・東京メトロ丸ノ内線銀座駅（A4出口）下車
徒歩5分

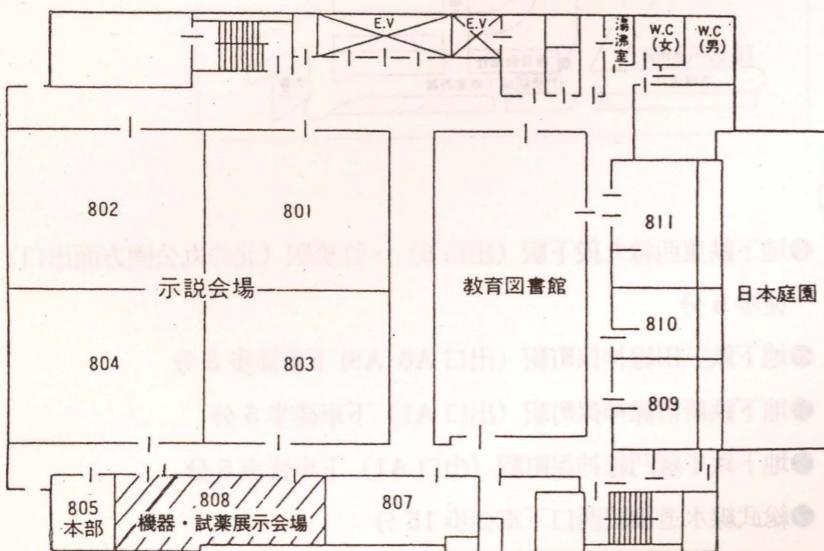
※駐車場の設備がありまじるので、電車等をご利用ください。

会場案内

3階ホール：記念講演、特別講演、総会・受賞講演、シンポジウム、ワークショップ、一般口演



8階会議室：示説、展示



3. 参加登録

受付は11月6日10:00, 11月7, 8日 8:45より日本教育会館1階ロビーにて行ないます。

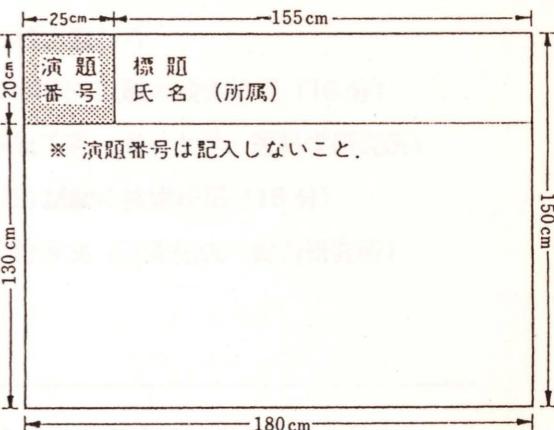
参加費7,000円、懇親会費5,000円で、当日も受付けています。会場では必ずネームプレートをご着用下さい。

4. 口演発表

- (1) 一般口演は発表10分、討論2分です。発表時間は厳守願います。
- (2) スライドは35mm判10枚以内にお願い致します。なお、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(早朝発表者は15分前)までにスライド受付で各自所定のホールに入れ、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150cm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、演題番号は大会事務局で用意しますので記入しないで下さい。標題、氏名(所属)は演題番号の右の20cm×155cmのスペースに記入して下さい。残りのスペースは自由に御使用下さい。ただし、なるべく目的、方法、結果、考察などに分け、理解し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にお願い致します。
- (3) 画鋲は事務局で用意します。パネルに直接セロテープで貼らないで下さい。
- (4) 発表者は当日、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

11月7日(木)(2日目) 18:15より日本教育会館9階喜山倶楽部で行います。

昼 食

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

分科会・研究会

第1回非変異・がん原性物質への対策研究会

――具体的な検索結果について――

日 時：11月6日(水) 18:00～20:30

場 所：日本教育会館3階ホール

――プログラム――

1. 発がんイニシエーター(変異原性物質)の検出側から

(a) 肝・腎における酸化的DNA障害の検索結果(15分)

高木篤也(国立衛生試験所 毒性部)

(b) ショウジョウバエの翅毛スポット試験の検索結果(15分)

井上裕章(三菱化成総合研究所)

2. In vitro 発がんプロモーターの検出側から

(a) JB6 細胞の軟寒天コロニー形成試験の検索結果(15分)

中村好志(静岡県立大 薬学部)

(b) V79 細胞の代謝協同阻害試験と BALB 3T3 細胞のトランスフォーメーション試験の検索結果(15分) 梅田 誠(横浜市立大 木原生物研究所)

3. In vivo-in vitro 発がんプロモーターの検出側から

(a) ラット胃・肝における複製DNA合成(RDS)試験の検索結果(15分)

降旗千恵(東京大学 医科学研究所)

(b) ラット肝における複製DNA合成(RDS)試験の検索結果(15分)

宇野芳文(三菱化成 総合研究所)

4. おわりに

参加資格：日本環境変異原学会員

参加費用：無料

世 話 人：吉川邦衛(三菱化成)

TEL 045-963-3341(直通)

FAX 045-963-3966

日本環境変異原学会・哺乳動物試験分科会
(JEMS・MMS)第20回定例会および
設立10周年記念特別講演会のご案内

MMS分科会第20回定例会および設立10周年記念特別講演会を以下の通り開催いたします。MMS分科会(発足当初は研究会)はこれまでに19回の定例会、「*In vitro* 染色体異常試験」および「小核試験」に関するワークショップの開催、「化学物質による染色体異常アトラス」の刊行をはじめ、小核試験に関し7回の共同研究(43報をMutat. Res.に発表または投稿中)、およびマウス毛色スポットテストに関する共同研究を行なってきました。ここで、10年を機にこれまでの活動を踏まえ、さらに新しい分野への発展を期して、MMS分科会のマイルストーンとすべく本記念定例会と特別講演会を企画しました。多数の皆様のご参加と、活発なディスカッションをお願いいたします。

第20回定例会

日時：1991年11月8日(金曜日)
午後6時から8時30分

場所：日本教育会館 大ホール(一ツ橋ホール)
東京都千代田区一ツ橋2-6-2
電話：03-3230-2831

参加費：無料

プログラム

1. 事務連絡
2. 第6回小核試験共同研究(がん原性との相関)の経過報告
日本グラクソ 森田 健
3. 第7回小核試験共同研究(加齢の影響)の経過報告
日本たばこ 佐藤 精一
4. トランスジェニックマウスとの半年間
国立衛試 鈴木 孝昌

(夕食の用意はありません)

ご意見ご希望は遠慮無く世話人まで

10周年記念大会世話人
島田弘康(第一製薬) 03-5696-8294
降旗千恵(東大医科研) 03-3443-8111(508)
林 真(国立衛試) 03-3700-1141(434)

設立10周年記念特別講演会

日 時：1991年11月9日(土曜日)
午前10時から午後4時

場 所：東京大学医科学研究所講堂
東京都港区白金台4-6-1
電話：03-3443-8111

参加費：会員は無料、(テキスト代、昼食代、記念Tシャツ代)
非会員は¥2000(テキスト代、昼食代を含む)
Tシャツは実費でおわけします。

参加申込：はがきで世話人まで申し込んでください。

昼 食：会場にて簡単な昼食(サンドイッチ、飲みものなど)を用意いたします。

記念イベント：MMS分科会ロゴマークの公募(別紙参照)
最優秀作品の表彰およびそのロゴをプリントしたTシャツを当日会員全員に配付します。

プログラム

9:30 受付

総合司会 島田 弘康(第一製薬)

10:00 開会のあいさつ 会長 祖父尼俊雄

座長 須藤 鎮世(伊藤ハム)

10:10 Transgenic mouseを用いる *in vivo* 突然変異試験系の解説
国立衛試 鈴木 孝昌

10:30 *In vivo* mutation assay system using a lacZ transgenic mice
Hazleton Laboratory Washington, Inc.
Dr. Brian Myhr

11:45 マウス胚の体細胞と生殖細胞の突然変異：
マウススポット共同研究の結果と今後の展望
食薬センター 濵谷 徹

12:30 昼食(立食)

座長 祖父尼俊雄(国立衛試)

14:00 Chromosome painting and kinetochore staining
Lawrence Livermore Natl. Lab.
Dr. James D. Tucker

15:15 小核試験：共同研究のまとめと標準プロトコールの提案
国立衛試 林 真

16:00 閉会

第8回微生物試験連絡協議会「公開研究会」

日 時：11月8日(金) 18:30~20:30

場 所：日本教育会館 8階会議室

プログラム

- 第一回共同研究会結果報告
- 精度管理に関する基礎データの情報交換

連絡先：微生物変異原性試験連絡協議会事務局

(Ames Test 連絡会)

〒257 神奈川県秦野市平沢 2445

日本バイオアッセイ研究センター

微生物試験室内

荒木 明宏

TEL 0463-82-3911

日本環境変異原学会第20回大会日程表

日 時	11月6日 (水)	日 時	11月7日 (木)	日 時	11月8日 (金)
8:45		8:45	受付	8:45	受付
9:00		9:00	口演	9:00	口演
10:00		10:00	受付	10:00	口演
10:55	開会挨拶 渡部烈	10:55	〈検出〉 O-11~O-15 座長 常盤 寛 富田 勲	10:55	〈機構〉 O-26~O-30 座長 川添 豊 望月 正隆
11:00	口演	11:00	〈試験法〉 O-1~O-5 座長 林 真 松下 秀鶴	11:00	〈代謝〉 O-31~O-35 座長 鎌滝 哲也 山添 康
12:00	昼食	12:00	〈試験法〉 O-6~O-10 座長 島田 弘康 吉川 邦衛	12:00	第20回大会記念講演 演者 杉村 隆 座長 加藤 隆一
13:00		13:00	13:30 総会 受賞講演 菊川 清見 座長 祖父尼俊雄	13:00	昼食
14:00	特別講演Ⅰ 演者 早津 彦哉	14:00	特別講演Ⅱ 演者 F. Peter Guengerich	14:50	示説
	座長 大西 克成		座長 渡部烈	15:00	〈検出〉 P-61~P-87
15:00	ワークショップ いわゆる Non-mutagenic Carcinogen を めぐる諸問題 W-1~W-5 座長 梅田 誠 藤木 博太	15:00	16:00 示説 〈試験法〉 P-1~P-27 〈検出〉 P-28~P-60	15:00	〈機構〉 P-88~P-105 〈修飾〉 P-106~P-116 〈代謝〉 P-117~P-119
17:30		17:50		14:50 休憩	
18:00		18:15	懇親会 (喜山倶楽部)	15:00 シンポジウム 変異・がん原性物質 の代謝的活性化機構 S-1~S-4 座長 加藤 隆一 長尾美奈子	
20:30	分科会	20:30		17:30	
				18:00	分科会
				20:30	

----- 第 20 回大会記念講演 -----

日本教育会館 3 階ホール

11月8日(金) (11:00~12:00)

座長 加藤 隆一

(慶應大・医・薬理)

ML 人はどうしてがんになるのか

杉村 隆 総長 (国立がんセンター)

----- 特別講演 I -----

日本教育会館 3 階ホール

11月6日(水) (14:00~15:00)

座長 大西克成

(徳島大・医)

PL-1 変異原研究の現状と将来

早津彦哉 学会長 (岡山大・薬)

-----特別講演 II-----

日本教育会館 3 階ホール

11月7日(木) (15:00~16:00)

座長 渡部烈

(東京薬大・二衛生化)

- PL-2 Bioactivation of Pro-mutagens by Oxidation and
Glutathione Conjugation

Prof. F. Peter Guengerich (Vanderbilt Univ., U. S. A.)

-----一般口演-----

日本教育会館 3 階ホール

11月6日(水) (11:00~12:00)

○は発表者

試験法

座長 林 真 (国立衛試・変異遺伝)

松下秀鶴 (静岡県立大・院・生活健康)

- O-1 11:00 In vivo-in vitro ラット肝 RDS (複製 DNA 合成) 試験を用いる非変異・肝がん原性物質の早期検出 (第 2 報)
○宇野芳文¹, 高沢博修¹, 宮川 誠², 井上由起¹, 村田妙子¹,
吉川邦衛¹ (¹三菱化成・総研・安全性研, ²三菱化成安全科学研)
- O-2 11:12 トランスジェニックショウジョウバエの変異原性試験への適用
○馬場 博¹, 蒲谷京子¹, 井上裕章¹, 吉川邦衛¹, 北村龍司²,
小森雅之², 鎌滝哲也² (¹三菱化成・総研・安全性研, ²北大・薬)
- O-3 11:24 iPMS の Muta Mouse 雄生殖細胞処理による遺伝子突然変異の検討
○加藤基恵¹, 猪股智夫², 鈴木文子¹, 石原尚古¹, 日柳政彦³,
瀧谷 徹¹, K. Intehar⁴, B. Myhr⁴ (¹食品薬品安全センター,
²麻布大, ³日本医科学動物資材研, ⁴Hazleton Washington, Inc.)
- O-4 11:36 洗剤主成分に対するヒト精子とマウス精子の感受性の差
○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-5 11:48 遺伝疫学指標としてのリンパ球小核形成—培養ヒトリンパ球における
因子作用機作および小核規模の検討
○牟礼佳苗, 小倉裕子, 森本兼義 (阪大・医・環境医)

11月6日(水) (13:00~14:00)

座長 島田弘康(第一製薬・研)
吉川邦衛(三菱化成・総研・安全性研)

- O-6 13:00 各種靈長類の末梢血リンパ球のフッ化ナトリウム感受性について
○岸邦和¹, 関沢浩一¹, 石田貴文², 鈴木樹理³ (¹杏林大・保健,
²東大・理, ³京大・靈長研)
- O-7 13:12 プロテアーゼ誘発試験による突然変異制御血清因子の検索
○鈴木信夫¹, 杉田克生² (¹千葉大・医・二生化, ²千葉大・医・
小児科)
- O-8 13:24 HPRT 欠損突然変異細胞の新しい検出法の開発
○平井裕子, 楠洋一郎, 秋山實利(放影研・免疫)
- O-9 13:36 omeprazole と loxitidine の in vivo DNA 一本鎖切断作用
○降旗千恵, 松島泰次郎(東大・医科研・癌生物)
- O-10 13:48 In vitro 染色体異常試験プロトコールに関する国際協力研究の成果について
○祖父尼俊雄¹, 山影康次², 山崎奈緒美¹, 松岡厚子¹, 田中憲穂²,
林真¹, 石館基³ (¹国立衛試・変異遺伝, ²食品薬品安全セン
ター・秦野研・細胞生物, ³オリンパス光学工業・染色体研究セ
ンター)

ワークショップ

日本教育会館 3階ホール

11月6日(水) 15:00~17:30

いわゆる Non-mutagenic Carcinogen をめぐる諸問題

座長 梅田 誠(横浜市立大・木原生物学研)

藤木博太(国立がんセンター研・がん予防)

はじめに(5分)

W-1 医薬品における非変異・がん原性物質調査の立場から(25分)

津志本元(大塚製薬・徳島研)

W-2 変異原性試験実施の立場から(25分)

吉川邦衛(三菱化成・総研・安全性研)

W-3 変異原性物質の代謝研究の立場から(25分)

○奥田晴宏, 小倉健一郎, 平塚明, 渡部烈(東京薬大・二衛生
化)

W-4 活性酸素研究の立場から(25分)

葛西宏(国立がんセンター研・生物学)

W-5 発がん性試験実施の立場から(25分)

黒川雄二(国立衛試・安全性生物試験研究センター・毒性)

総合討論(20分)

一般口演

日本教育会館 3 階ホール

11月7日(木) (9:00~12:00)

○は発表者

検出

座長 常盤 寛 (福岡県衛生公害センター)
富田 真 (静岡県立大・薬)

- O-11 9:00 PhIP の染色体変異誘発性について I. 染色体構造異常誘発性
○大塚ち乃¹, 三浦邦彦¹, 畑中みどり¹, 若林敬二², 長尾美奈子²,
石館 基¹ (オリンパス光学工業・染色体研究センター, ²国立
がんセンター研・発がん)
- O-12 9:12 PhIP の染色体変異誘発性について II. SCE 誘発性
○佐藤卓朋¹, 三浦邦彦¹, 若林敬二², 長尾美奈子², 石館 基¹ (オ
リンパス光学工業・染色体研究センター, ²国立がんセンター
研・発がん)
- O-13 9:24 環境変異原物質 (3,6-DNBP, B(a)P) による誘発腫瘍における抗 BrdU
モノクローナル抗体を用いた細胞動態の解析
○田島 静, 堀川和美, 世良暢之, 村上光一, 常盤 寛 (福岡県衛
生公害センター)
- O-14 9:36 1- および 3-ニトロ-6-アザベンツ [a] ピレンの合成と変異原性の化学
的解析
○福原 潔¹, 世良暢之², 常盤 寛², 宮田直樹¹ (¹国立衛試・有機化
学, ²福岡県衛生公害センター)
- O-15 9:48 Pyrenequinone, Benzo[a]pyrenequinone のショウジョウバエ DNA
修復試験
古川秀之, ○河井一明, 北原昇吾 (名城大・薬・生物科学)

座長 西岡 一 (同志社大・生化) 88-11-15-0

松島泰次郎 (日本バイオアッセイ研究センター)

- O-16 10:00 ethylene dibromide の遺伝子毒性についての比較研究
○蜂谷紀之, 尾留川有紀子, 権 太浩, 滝澤行雄 (秋田大・医)
- O-17 10:12 水道水の変異原性と MX の定量値
○木苗直秀, 杉山千歳, 後藤和弥, 徳本清乃, 古郡三千代 (静岡県
立大・食品栄養科学)
- O-18 10:24 PHA 刺激ヒト末梢血リンパ球の細胞分裂動態における加齢変化
○竹下達也, 森本兼義 (阪大・医・環境医)
- O-19 10:36 ヒト胆汁中の突然変異原性の検討による胆道がんの成因研究
○真野 裕¹, 明石牧子², 早津彦哉² (¹新潟大・医・衛生, ²岡山大・
薬)
- O-20 10:48 DNA 中 5-methylcytosine の deamination の PCR 法による検出
○原田善史¹, 根岸和雄², 早津彦哉¹ (¹岡山大・薬, ²岡山大・遺伝
子)

機構

- 座長 能美 健彦 (国立衛試・変異遺伝)
若林 敬二 (国立がんセンター研・発がん)
- O-21 11:00 *Salmonella typhimurium* の *umuDC* 様遺伝子, *umuDCSt* と *samAB*
の変異原に対する特異性
○能美健彦¹, 渡辺雅彦¹, 山田雅巳¹, 羽倉昌志¹, 村山聰明²,
祖父尼俊雄¹ (¹国立衛試・変異遺伝, ²帝京大・医・細菌)
- O-22 11:12 ニトロアレーン, 芳香族アミンに高感度を示す変異原検出系の特性
○小田美光¹, 島田 力¹, 山崎浩史¹, 渡辺雅彦², 能美健彦² (¹大阪
府立公衛研, ²国立衛試・変異遺伝)
- O-23 11:24 *N*-エチル-*N*-ニトロソ尿素によるマウス 8.5 日胚始原生殖細胞の突然
変異誘発
○濫谷 徹, 松田 洋, 石原尚古, 加藤基惠, 原 巧 (食品薬品
安全センター・秦野研)

O-24 11:36 X線照射によるヒト cHPRT 遺伝子上の誘発突然変異スペクトルの解析

樋口浩文¹, ○尾川博昭¹, 加藤安彦¹, 木村 博², 加藤武司³

(¹九工大・工・物質, ²滋賀医大・放基, ³阪大・医・放基)

O-25 11:48 “スリップー誤整合”による突然変異生成機構

○加藤武司¹, 木村 博², 尾川博昭³, (¹阪大・医・放基, ²滋賀医大・放基, ³九工大・工・物質)

総 会

受賞講演

○受賞者: ○司会者: 日本教育会館 3階ホール

11月7日(木) (13:30~15:00)

座 長 祖父尼 俊 雄

(国立衛試・変異遺伝)

AL 食品・医薬品由来の変異原物質の分離・同定とその生成機構

菊川 清 見 (東京薬大・一衛生化)

示 説

日本教育会館 8 階会議室

11月7日(木) 16:00~17:50

○は発表者

試験法

- P-1 「Rec-lac test」の開発と評価 [II]—大腸菌活性酸素感受性株による検討—
○倉岡 功, 平津圭一郎, 小野哲義, 山田和正, 西岡 一 (同志社大・生化)
- P-2 活性酸素 Scavenger の検索と評価—大腸菌活性酸素防御系欠損株による「kat-sod assay」などの応用—
小西拓也, ○小野哲義, 安藤直宏, 山田和正, 西岡 一 (同志社大・生化)
- P-3 ニトロ還元酵素活性とアセチル転移酵素活性を同時に高めた *Salmonella typhimurium* TA98, TA100 の新しい誘導株 YG1041, YG1042 の特性
○萩原雄二¹, 渡辺雅彦¹, 小田美光², 能美健彦¹, 祖父尼俊雄¹
(¹国立衛試・変異遺伝, ²大阪府立公衛研)
- P-4 Nalidixic acid の *Salmonella typhimurium* TA102 の復帰変異とプラスミド pAQ1 のコピー数に与える影響
○三島雅之, 堀内一宏, 井上 誠, 長谷川隆司 (中外製薬・安全性研)
- P-5 *S. typhimurium* TA100 による D-ヒスチジンの利用
○大塚雅則, 森永範子 (化学品検査協会・日田研)
- P-6 復帰変異試験の結果におよぼすニュートリエントプロスの影響
○畠山茂樹¹, 有賀正人¹, 高坂芳男¹, 川瀬重雄¹, 遠藤 治²,
関 良子³, 清水英佑³ (¹日清製粉・医薬研, ²国立公衆衛生院,
³慈恵医大・公衆衛生)

- P-7 環境汚染物質のポータブルバイオアッセイシステムの試作
○遠藤 治¹, 後藤純雄¹, 松下秀鶴² (¹国立公衆衛生院, ²静岡県立大)
- P-8 Ames 試験データの統計解析
○坂本 豊¹, 浜田知久馬², 和田武夫² (¹武田分析研・生物試験,
²武田薬品・研開本・システム管理)
- P-9 微生物変異原性試験に用いる検定菌の検出感度に関する共同研究
微生物変異原性試験連絡協議会
世話人代表 荒木明宏 (日本バイオアッセイ研究センター)
- P-10 染色体異常試験における最適プロトコールの検討 I. 播種細胞数と前培養時間等の影響
山影康次, ○久保欣也, 泉 淳, 田中憲穂 (食品薬品安全センター・秦野研・細胞生物)
- P-11 雜種細胞 A9 (GM3552)-2 を用いた異数性誘発物質の検出 (続報)
○山影康次¹, 押村光雄², 田中憲穂¹ (¹食品薬品安全センター・秦野研・細胞生物, ²鳥取大・医・生命科学)
- P-12 マウス H-2 クラス I 遺伝子座位における突然変異の検出
○小田切陽一, 川村 堅, 軽部敏昭, 竹本和夫 (埼玉医大・公衆衛生)
- P-13 マイトマイシン C 投与による腸上皮細胞の染色体異常
○大山わか, 浦川真実, 徳光 崇 (ヤクルト本社・中研)
- P-14 ヒト・リンパ球を用いた染色体異常試験の検討—全血培養と分離リンパ球培養の比較—
○堀内一宏, 三島雅之, 井上 誠, 長谷川隆司 (中外製薬)
- P-15 無血清培地を用いた染色体異常試験の検討—染色体異常誘発に及ぼす血清の影響—
梶原美次, ○小椋正造, 吉田奈保子, 安心院祥三 (化学品検査協会・日田研)
- P-16 ガス状物質の培養細胞を用いる染色体異常試験 (第 2 報)
○浅倉真澄, 杉山淑江, 倉富美紀, 井上みゆき, 野口 忠,

松島泰次郎 (日本バイオアッセイ研究センター・変異原性試験)

P-17 染色体画像解析装置による染色体異常試験の標本観察の自動化

○山本圭介, 小木曾重文, 原 正樹, 小田原恭子, 加藤日路士, 中塚 嶽, 吉武 彰 (住友化学工業・生物環境科学研)

P-18 ミニサテライト DNA プローブを利用したヒト体細胞突然変異の検出

○本間正充¹, 片岡英子¹, 大西清方¹, 菊野 秩², 井上 玲¹, 水沢 博¹, 祖父尼俊雄¹ (¹国立衛試・変異遺伝, ²化学品検査協会・日田研)

P-19 MNNG 処理によるミニサテライト DNA 変異の検出—DNA Finger-print 法による解析

○菊野 秩¹, 本間正充², 片岡英子², 大西清方², 井上 玲², 水沢 博², 祖父尼俊雄² (¹化学品検査協会・日田研, ²国立衛試・変異遺伝)

P-20 トランスジェニックマウスを用いる *in vivo* 変異原検出系の開発—遺伝子突然変異と小核誘発性の同時検出系

○鈴木孝昌¹, 林 真¹, 祖父尼俊雄¹, B. Myhr² (¹国立衛試・変異遺伝, ²Hazleton Washington, Inc.)

P-21 Mitomycin C のトランスジェニックマウスにおける遺伝子突然変異と小核誘発性の比較検討

○林 真¹, 鈴木孝昌¹, 祖父尼俊雄¹, B. Myhr² (¹国立衛試・変異遺伝, ²Hazleton Washington, Inc.)

P-22 Analytical method for mutations *in vivo* at the LacZ locus in mutamouse tissues

○ B. Myhr¹, H. Khouri¹, K. Intehar¹, L. Custer¹, 鈴木孝昌² (¹Hazleton Washington, Inc., ²国立衛試・変異遺伝)

P-23 マウス小核試験では 2 回投与後末梢血を 2 回採取するプロトコールでまずスクリーニングするとよい: フェナセチンとナイトロジエンマスターとの結果からの提案

○東久邇真彦, 中村豊郎, 須藤鎮世 (伊藤ハム・中研)

P-24 CHL 細胞を用いる *in vitro* 小核試験: *in vitro* 染色体異常試験との

比較

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

P-25 不定期 DNA 合成 (UDS) と複製 DNA 合成 (RDS) 誘導の 4 型

○大沢浩一, 森 真輝, 降旗千恵 (東大・医科研・癌生物)

P-26 肝細胞初代培養/DNA 修復試験による発癌抑制物質検出の試み (I)

○杉江茂幸, 吉見直己, 奥村 中, 田中卓二, 森 秀樹 (岐阜大・医・第一病理)

P-27 細胞間代謝協同阻害試験における発がんプロモーターの検出 (第 2 報) 代謝活性化法の検討

○岩瀬裕美子, 田中 智, 武田祐子, 吉川邦衛 (三菱化成・総研・安全性研)

検出

P-28 Epidemiological study of relationship between mutagenic activity of air pollutants and female mortality of lung cancer in Taiwan

○洪 清霖¹, 林 瑞雄², 清水英佑³ (¹台北医学院・公衆衛生, ²台湾大・医・公衆衛生, ³慈惠医大・公衆衛生)

P-29 都市大気中のガス状物質の変異原性 (第 2 報)

○神谷明男, 水谷弘雄 (名古屋市公害研)

P-30 大気浮遊粒子上におけるニトロアレーンの生成—2-ニトロフルオルオルテンの生成について—

○山口麻実¹, 久松由東² (¹青山学院大・理工, ²国立公衆衛生院)

P-31 空気中の変異原物質への曝露要因の検討

○大久保忠利¹, 後藤純雄², 遠藤 治², 松下秀鶴³, 石井忠浩¹ (¹東理大, ²国立公衆衛生院, ³静岡県立大)

P-32 ガス状物質の変異原性試験法 (II)

○井出一博¹, 後藤純雄², 遠藤 治², 河合昭宏², 松下秀鶴³, 石井忠浩¹ (¹東理大, ²国立公衆衛生院, ³静岡県立大)

P-33 個人曝露空気浮遊粒子試料の変異原性 (III) —東京とノースカロライ

- ナの試料の比較—

松下秀鶴¹, ○後藤純雄², 遠藤 治², 田辺 潔², 小谷野道子²,
高木敬彦³, 石井忠浩⁴, J. Lewtas⁵, R. Williams⁵ (¹静岡県立大,
²国立公衆衛生院, ³麻布大, ⁴東理大, ⁵U. S. EPA 健康影響研)

P-34 火山灰粒子による V79 培養細胞の SCE 誘発について
○白石不二雄¹, 藤巻秀和¹, 宝来俊一² (¹国立環境研, ²鹿児島県環境
センター)

P-35 ニトロソアミンの変異原性に対する野菜の防御作用
○江幡淳子¹, 豊原真佐子¹, 北原昇吾², 石原希世², 河井一明², 古川
秀之² (¹大阪市立大・生活科学, ²名城大・薬)

P-36 モノ及びセスキテルペノイド配糖体の SOS 反応の誘導性について
宮沢三雄¹, ○中村清一², 松山芳浩¹, 佐野光夫¹, 亀岡 弘¹
(¹近畿大・理工, ²大阪府立公衛研)

P-37 食品中に含まれる直鎖飽和脂肪酸の Liquid Rec-assay
野中美智子 (九大・農・食糧化学工学・食糧化学)

P-38 姉妹染色分体交換 (SCE) および染色体異常誘発を指標にした河川水
の遺伝毒性
大江 武 (京都女子大・家政)

P-39 高感度 Ames テスト (microsuspension 法) による一般環境水域の汚
染調査
○玉川勝美, 高畠寿太郎, 相原良之, 関 敏彦 (仙台市衛生研)

P-40 環境水域中の 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-41 ブルーレーションによる変異原抽出技法の展開
○明石牧子, 早津聰子, 阪本 博, 早津彦哉 (岡山大・薬)

P-42 クロロフィリン・セファロースに対する変異原物質の吸着
有元佐賀恵, ○福岡澄江, 糸目千穂, 早津彦哉 (岡山大・薬)

P-43 1,6- 及び 3,6-ジニトロベンゾ (a) ピレン及び関連化合物の変異原性
○世良暢之¹, 福原 潔², 宮田直樹², 堀川和美¹, 田島 静¹,
村上光一¹, 常盤 寛¹ (¹福岡県衛生公害センター, ²国立衛試・有

- P-44 1-nitropyrene 誘導体と DNA との反応性とその変異原性
○佐野友春, 宇野由利子, 彼谷邦光 (国立環境研・化学環境)

P-45 Sterigmatocystin 及び関連化合物の変異原性
○関島 勝¹, 王 殿升¹, 渡部秀次², 菅井久美子², 関田節子³,
上野芳夫¹ (¹東理大・薬, ²三菱油化ビーシーエル, ³国立衛試・
生薬)

P-46 エピクロルヒドリンの変異原性について
○寺田めぐみ, 水橋福太郎, 村田共治, 石川莞爾 (クミアイ化学工
業・生物科学研)

P-47 クロロフェノール類の umu テストによる遺伝毒性の誘発に関する
研究
○小野芳朗, 宗宮 功, 川口達也 (京大・工・衛生工学)

P-48 種々の有機スズ化合物の遺伝毒性に関する研究
○濱崎哲郎, 佐藤孝彦, 永瀬久光, 鬼頭英明, 野杦伸英, 羽賀新世
(岐阜薬大・公衆衛生)

P-49 白金錯体の変異原性 [II]
○宇野由利子, 森田昌敏 (国立環境研・化学環境)

P-50 金属化合物による *in vitro* における 8-ヒドロキシデオキシグアノシ
ン (8-OH-dG) の生成
○秦 真奈美, 杉山明男, 吉川邦衛 (三菱化成・総研・安全性研)

P-51 「kat-sod assay」の開発と評価
林 悟, 倉岡 功, 小野哲義, 平津圭一郎, 山田和正,
藤河佳代, ○西岡 一 (同志社大・生化)

P-52 plasmid 組換えによる strand-break 検出法の開発—活性酸素を中心
に—
○平津圭一郎, 木村 剛, 倉岡 功, 小野哲義, 山田和正,
西岡 一 (同志社大・生化)

P-53 たばこ煙捕集液の蒸留ジェチルエーテル存在下における過酸化水素の
生成増強

○大屋幸子¹, 山本興太郎² (1神奈川県立衛生短大・病理, ²東京医歯大・難治研・ウイルス)

- P-54 γ 線照射した糖, アミノ酸混合液の加熱物の変異原性
○坂本京子, 森久保桂子, 高鳥浩介, 濵谷徹, 粟飯原景昭 (食品薬品安全センター・秦野研)

- P-55 照射小麦粉飼料給餌によるチャイニーズ・ハムスター骨髄細胞における倍数体誘発

○田中憲穂, 山影康次, 泉淳 (食品薬品安全センター・秦野研・細胞生物)

- P-56 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(3) -DNA へのソラレン結合量と変異原性-
○田辺富士美, 根岸友恵, 早津彦哉 (岡山大・薬)

- P-57 N-ニトロソジアルキルアミンの, 酢酸存在下, 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)

- P-58 米国 NTP 選定化学物質による umu テストの評価
○安永勝昭, 大河内亜紀子, 浅井紀子, 吉川邦衛 (三菱化成・総研・安全性研)

- P-59 1,2-dimethylhydrazine (DMH) によるラット大腸粘膜細胞の DNA 損傷 (IV) CaCl_2 および NaCl の影響
○権太浩, 蜂谷紀之, 滝澤行雄 (秋田大・医・公衆衛生)

- P-60 ^{32}P ポストラベル法による人白血球 DNA 付加体の測定
市場正良 (佐賀医大・地域保健)

一般口演

日本教育会館 3 階ホール

11月8日(金) (9:00~11:00)

○は発表者

機構

座長 川添 豊 (名市大・薬)

望月 正隆 (共立薬大・有機薬化)

- O-26 9:00 ジアゾキノンから生成するフリーラジカルの DNA 損傷作用と変異原性
○平本一幸, 小島一弘, 加藤哲太, 菊川清見 (東京薬大)

- O-27 9:12 ヒドラジン化合物によるラジカル生成および DNA 損傷
○川西正祐, 山本亘二 (京大・医・公衆衛生)

- O-28 9:24 PhIP-DNA 付加体の構造解析
○若林敬二¹, 金善奉¹, 落合雅子¹, 糸谷東雄², 杉村 隆¹, 長尾美奈子¹ (1国立がんセンター研・発がん, ²静岡県立大・薬)

- O-29 9:36 Trp-P-2 および Trp-P-2 (NHOH) の細胞内 DNA 2 本鎖切断作用. 変異原性との関係.
○角谷俊文, 綿矢有佑, 早津彦哉 (岡山大・薬)

- O-30 9:48 金属イオンによる適応応答誘導の阻害機構 (第 2 報)
○高橋和彦¹, 鈴木任¹, 川添 豊¹, 作見邦彦², 関口睦夫³ (1名市大・薬, ²九大・生医研, ³九大・医)

代謝

座長 鎌滝哲也 (北大・薬)

山添 康 (慶應大・医・薬理)

- O-31 10:00 ヒドロキサム酸の変異原性と代謝活性化機構
○磯部正和, 植木一郎, 高畠英伍 (摂南大・薬)

- O-32 10:12 金属ポルフィリン錯体を用いたシトクロム P-450 モデルによる N-ニ

トロソジアルキルアミンの代謝活性化
○大河内江里子, 猪俣幸代, 霜田恵子, 望月正隆 (共立薬大・有機
薬化)

O-33 10:24 脾管胆道合流異常モデル (脾管胆囊吻合) 犬胆汁の変異原性
董 航, ○木内武美, 国友一史, 古味信彦, 片岡佳子, 秋本 茂,
大西克成 (徳島大・医)

O-34 10:36 シリアンハムスターのアセチル転移酵素遺伝子の *S. typhimurium* への導入
○安藤誠人¹, 神藤康弘¹, 藤田正敬¹, 小沢正吾², 山添 康²,
加藤隆一² (¹明治製菓・安全性研, ²慶應大・医・薬理)

O-35 10:48 *S. typhimurium* ニトロ還元酵素, O-アセチル転移酵素遺伝子の哺乳
類培養細胞への導入
○渡辺雅彦, 松岡厚子, 山田雅巳, 山崎奈緒美, 林 真, 関 健
能美健彦, 祖父尼俊雄 (国立衛試・変異遺伝)

示 説

日本教育会館 8階会議室

11月8日 (13:00~14:50)

○は発表者

検出

- P-61 マウス小核試験とヒト癌原性との相関性—第1報—
○森田 健 (日本グラクソ)
- P-62 マウス小核試験におけるヒト癌原物質の反応—性ホルモンについて—
○本田幸子¹, 大内田昭信², 浅野哲秀³, 杉山千代美⁴, 小林 浩⁴,
佐藤茂秋¹ (¹富山県衛生研, ²大鵬薬品, ³日東电工, ⁴資生堂)
- P-63 2-AAF の小核試験—性差, 系統差および連投効果—第2報—
○浅野哲秀 (日東电工・安全性研)
- P-64 Dibenz[*a, h*]anthracene の小核試験
○近藤耕治, 宮島博文 (塩野義製薬・研)
- P-65 Benz[*a*]anthracene の小核誘発性に関する検討
○直 弘, 畠山義朗, 鈴木修三 (実中研・前臨床医学研)
- P-66 *p*-aminoazobenzene のマウスを用いる小核試験
○関口 博, 倉持正博, 田沢 正 (ビー・エム・エル・安全性試験)
- P-67 β -butyrolactone の小核試験
○朝波省吾, 下野和之, 植島基雄 (大塚製薬工場・鳴門研)
- P-68 Diethyl sulfate および dimethyl sulfate のマウスを用いる小核試験
○宮前陽一¹, 山田 弘², 平井 収¹, 坂口正之², 野口英世¹,
佐々木 有² (¹藤沢薬品工業・安全性研, ²ファイザー製薬・新薬
開発センター)
- P-69 Chloromethyl methyl ether に関する細胞遺伝学的検討
○玉井功一, 植渡恒憲 (保健科学研・変異原性試験)
- P-70 紡錐体形成阻害作用をもつロテノンの小核誘発能

- 加藤朋子, 松元郷六, 太田敏博 (残留農薬研)
- P-71 Ara-C の AO 超生体染色による末梢血小核試験
○岩倉啓子¹, 田村博信¹, 松本明子¹, 安心院祥三², 小椋正造²,
柿本敬治郎², 松元孝範², 林 真³ (¹日本新薬・安全性研, ²化学
品検査協会・日田研, ³国立衛試・変異遺伝)
- P-72 アセトアミドの変異原性 (小核試験を中心とした検討) —第6回小核
試験共同研究—
○三浦大志郎, 笠原義典, 中井康晴, 八木君枝, 平林圭子,
蒔田徳太郎 (帝人・生物医学第2研・安全性)
- P-73 Azaserine のマウス小核試験
○湯野幸一郎, 玉起美恵子, 宮内美津江, 若田明裕 (山之内製薬・
安全性研)
- P-74 Acrylonitrile のマウス小核試験におけるヒト癌原性との相関性の
検討
○畠中 豊, 豊田佳子, 北川義徳, 諏訪芳秀 (サントリー・基礎研)
- P-75 鉱物油 (Mineral oil) の小核誘発性
○中嶋 圓, 北沢倫世, 鶴飼優慈, 藤原正孝, 井上博之 (食品農医
薬品安全性評価センター)
- P-76 Erythropoiesis から見た小核試験 (その5) アスピリンの小核誘発能
に与える影響
○鈴木勇司, 清水英佑, 福本正勝, 小此木英男 (慈恵医大・公衆衛
生)
- P-77 強磁場にマウスを全身曝露したときの小核誘発について
○清水英佑, 鈴木勇司, 福本正勝, 小此木英男 (慈恵医大・公衆衛
生)
- P-78 Silica silicis anhydrate のマウスの末梢血を用いた小核試験
○安心院祥三, 柿本敬次郎, 小椋正造, 梶原美次 (化学品検査協会・
日田研)
- P-79 Arsenic trichloride のマウス末梢血液を用いた小核試験
○中島栄一, 岡 佳江 (東洋紡・医薬研)
- P-80 Arsenic acid のマウスを用いた小核試験
○近藤 靖, 東口卓史, 仁藤新治, 浅野裕三, 有行史男 (田辺製薬・
安全性研)
- P-81 金属化合物の小核誘発作用に関する検討
○伊東 悟, 服部千春, 松浦由美子, 島田弘康 (第一製薬・開発研)
- P-82 硫酸ベリリウムの小核試験
○瀬良貴子, 竹中栄二, 連川佳代子, 馬場恒夫 (ダイセル化学工業・
総研)
- P-83 ラット肝細胞を用いた小核試験
○東口卓史, 近藤 靖, 仁藤新治, 浅野裕三, 有行史男 (田辺製薬・
安全性研)
- P-84 ラット末梢血小核試験—I—
○青儀 巧, 小原淑子 (大塚製薬・安全性研究センター)
- P-85 ショウジョウバエを用いた Resorcinol の変異原性の検討
○石原幸治, 五十嵐伸一, 中島和子, 坂本 了 (日産化学工業・生
物科学研)
- P-86 3種の変異原物質による *in utero* マウス初期胚の SCE 誘発
○三瀬敬治, 浦澤正三 (札幌医大・衛生)
- P-87 MNNG により誘発される CHL 細胞の極微弱発光について (その2)
—染色体異常試験との比較—
○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・稲場生物フォトンプロジェクト, ²東北大・電
気通信研, ³東北大・農・栄養化学)
- 機 構
- P-88 太陽紫外線からの植物の防御機構
○大西武雄¹, 高橋昭久¹, 武田幸作² (¹奈良医大・生物, ²東京学芸
大・生物)
- P-89 光力学作用をもつ化学物質のラジカル作用
○米田和子¹, 岩本サカエ², 小南清司¹, 橋本昇次¹, 大西武雄³

- (¹奈良医大・薬剤, ²吉野保健所, ³奈良医大・生物)
- P-90 正常ヒトリンパ球におけるγ線及びマイトイシンC (MMC) の複合影響
 ○飯島久美子¹, 森本兼襄² (¹東大・医・母子保健, ²阪大・医・環境医)
- P-91 IQ の染色体構造異常誘発性について—S9 处理条件の吟味—
 ○三浦邦彦¹, 畑中みどり¹, 若林敬二², 長尾美奈子², 石館 基¹
 (¹オリンパス光学工業・染色体研究センター, ²国立がんセンター研・発がん)
- P-92 Endoreduplication からの異数体形成
 ○松元郷六, 太田敏博 (残留農薬研)
- P-93 ヘテロサイクリックアミン類の染色体異常増強作用
 ○山田 弘¹, 坂口正之¹, 松村久子², 下位香代子³, 佐々木 有¹
 (¹ファイザー製薬, ²残留農薬研, ³静岡県立大・食品栄養)
- P-94 MNU 处理によるマウス生殖細胞の DNA 塩基損傷とその修復
 ○井上雅雄, 宮越 稔, 栗原孝行 (金沢医大・総医研)
- P-95 アミノ酸・ブドウ糖の加熱物による DNA 鎖切断
 平本一幸, 吉田豊光, 加藤哲太, ○菊川清見 (東京薬大)
- P-96 ショウジョウバエ体細胞 DNA のアルキル化と突然変異誘発頻度との相関性
 ○伊東和雄¹, 松田智子¹, 根岸友恵¹, 許 南浩², J. Thomale³,
 M. F. Rajewsky³, 早津彦哉¹ (¹岡山大・薬, ²東大・医研,
³Essen 大)
- P-97 MeIQx-グアニン付加体の構造
 ○田中芳乃¹, 若林敬二¹, 金 善奉¹, 落合雅子¹, 糸谷東雄²,
 杉村 隆¹, 長尾美奈子¹ (¹国立がんセンター研・発がん, ²静岡県立大・薬)
- P-98 ステビオールによって誘発される *Salmonella typhimurium gpt* 遺伝子突然変異の PCR 法を用いた解析
 ○松井道子, 能美健彦, 祖父尼俊雄 (国立衛試・変異遺伝)

- P-99 *Salmonella typhimurium* O⁶-メチルグアニン DNA メチル転移酵素 (MTase) 遺伝子欠損株の作成とその性質
 ○山田雅巳, 羽倉昌志, 松井恵子, 能美健彦, 祖父尼俊雄 (国立衛試・変異遺伝)
- P-100 In vivo-in vitro ラット肝 RDS (複製 DNA 合成) 試験を用いる芳香族アミンのがん原性の検討
 ○高沢博修¹, 宇野芳文¹, 宮川 誠², 井上由起¹, 村田妙子¹,
 吉川邦衛¹ (¹三菱化成・総研・安全性研, ²三菱化成安全科学研)
- P-101 MTX の小核誘発性と nuclease 活性
 ○笠原義典, 中井康晴, 三浦大志郎, 八木君枝, 蒔田徳太郎 (帝人・生物医学第 2 研・安全性)
- P-102 一アミノ酸残基を置換した DNA ポリメラーゼβ による in vitro DNA 合成エラー
 ○Magdy, Mohamed¹, 谷田貝文夫¹, 松影昭夫², 伊達孝保³,
 花岡文雄¹ (¹理研・細胞生理, ²愛知がんセンター研・生物, ³金沢医大・生化)
- P-103 モノ, ジ, トリニトロナフタレン類の変異原性とニトロ還元性
 ○大森清美¹, 福原 潔², 岩田修永³, 堀口佳哉¹, 渡辺重信¹,
 高橋 悅³, 宮田直樹² (¹神奈川県衛生研, ²国立衛試・有機化学,
³国立衛試・代謝生化学)
- P-104 タンパク質およびその消化物の亜硝酸スカベンジャー効果と抗変異原効果
 ○加藤哲太, 菊川清見 (東京薬大)
- P-105 松かさ抽出物の抗変異原性について
 ○青木公子¹, 李 恵淑², 坂上 宏³, 吉田武美¹, 黒岩幸雄¹
 (¹昭和大・薬, ²韓国化学研, ³昭和大・医)

修 飾

- P-106 エピガロカテキンガレート (EGCG) の変異原性抑制作用について
 ○根岸友恵¹, 阪田 功², 早津彦哉¹ (¹岡山大・薬, ²東洋薄荷)

- P-107 緑茶エピガロカテキンガレートの亜硝酸捕捉作用
早津彦哉, ○早津聰子 (岡山大・薬)
- P-108 ビタミン B₆類の *in vitro* および *in vivo* 抗突然変異作用
○赤岩江里子, 鈴木菜穂, 下位香代子, 佐野満昭, 中村好志,
富田 勲 (静岡県立大・薬)
- P-109 放線菌の生産する抗変異原物質
○山田哲郎¹, 大澤俊彦², 川岸舜朗², 鵜高重三², 大田敏博³
(¹フジパン, ²名大・農, ³残留農薬研)
- P-110 ラット末梢血を用いる臭素酸カリウムの小核試験—抗酸化剤による影響
○佐井君江¹, 林 真², 高木篤也¹, 長谷川隆一¹, 祖父尼俊雄²,
黒川雄二¹ (¹国立衛試・毒性, ²国立衛試・変異遺伝)
- P-111 染毛剤原料 *m*-phenylenediamine の酸化時に生成する変異原物質に対する aniline 及び phenol 化合物の影響
○渡辺徹志, 楠本雅典, 平山晃久 (京都薬大)
- P-112 TPA の発癌プロモート作用に対する香料成分等の抑制
○佐々木 有, 山田 弘, 坂口正之 (ファイザー製薬・新薬開発センター)
- P-113 MNU のマウス胎児毒性における O⁶-methylguanine (MG) 前処理による増強効果
○松田 洋, 濵谷 徹 (食品薬品安全センター・秦野研)
- P-114 二酸化窒素暴露下に多環芳香族炭化水素を投与した実験動物尿中の変異原性
○宮西幸一¹, 木内武美¹, 片岡佳子¹, 加納堯子², 大西克成¹
(¹徳島大・医, ²東京都衛生研)
- P-115 過酸化水素共存下でのメチルグリオキサールによる核酸塩基の修飾
○多田明宏¹, 糸谷東雄¹, 辻 邦郎¹, 諏訪芳秀², 若林敬二³,
長尾美奈子³, 杉村 隆³ (¹静岡県立大・薬, ²サントリー・基礎研, ³国立がんセンター研・発がん)
- P-116 水道水中の強力な変異原物質 MX の安定性

○杉山千歳, 後藤和弥, 徳本清乃, 古郡三千代, 木苗直秀 (静岡県立大・食品栄養科学)

代 謝

- P-117 2,4-Dinitrobiphenyl 誘導体の変異原性代謝物の構造
○平山晃久, 井口和彦, 渡辺徹志 (京都薬大)
- P-118 ヒドラゾンの自動酸化生成物による突然変異原性発現とその機構
○道廣幸三, 出本有紀, 塩見佳津子, 望月正隆 (共立薬大・有機薬化)
- P-119 1-Nitro-3-acetoxypyrene の S9 mix による代謝と nitroreductase による DNA 付加体の分析
○真鍋芳樹, 朝倉正登, 後藤 敦, 實成文彦 (香川医大・衛生・公衆衛生)

シンポジウム

日本教育会館 3 階ホール

11月8日(金) (15:00~17:30)

変異・がん原性物質の代謝的活性化機構

座長 加藤 隆一 (慶應大・医・薬理)

長尾美奈子 (国立がんセンター研・発がん)

はじめに (5分)

S-1 ニトロピレンの代謝的活性化機構 (30分)

○大西克成, 木内武美, 片岡佳子, 宮内幸一 (徳島大・医)

S-2 がん原性芳香族アミン類を活性化するチトクローム P-450 (30分)

○出川雅邦, 橋本嘉幸 (東北大・薬・衛生化)

S-3 変異・がん原性物質を活性化する第Ⅰ相酵素 (30分)

鎌滝哲也 (北大・薬・薬品分析化)

S-4 変異・がん原性物質を活性化する第Ⅱ相酵素 (30分)

山添 康 (慶應大・医・薬理)

総合討論 (25分)

第20回 大会記念講演

特別講演Ⅰ

特別講演Ⅱ

受賞講演

シンポジウム

ワークショップ

MEMO

第20回大会記念講演

ML 人はどうしてがんになるのか

杉村 隆（国立がんセンター 総長）

正常細胞にいくつかの遺伝子変化が起こり、がん細胞に変換する。がん化に関連するのは、がん遺伝子、がん抑制遺伝子等である。遺伝子の変化の種類は、塩基対の変換、遺伝子の組みかえ、遺伝子の増幅、遺伝子の欠失等である。がん遺伝子、がん抑制遺伝子産物としては、シグナル伝達に関する増殖因子、その受容体、G蛋白質に関連するもの、蛋白質磷酸化酵素、核内の遺伝子転写調節蛋白質、細胞周期調節因子等がある。

日本環境変異原学会が設立された当時は、環境中にある変異原物質は、長期に大量に投与すると動物にがんを起こすことから、まさしく、がんの原因を探究することになっていると理解されていた。人間の職業がんのあるものは、単一に近い変異原物質への大量暴露により起こっていることも、このことを支持した。しかし実際に我々の環境中に存在する変異原は多種多様であり、しかも微量であることがわかった。すなわち、ある特定の単一の化合物のみでヒト発がんを説明することは困難である。

一方がん細胞には、先に述べたいくつかの遺伝子に多重の変化があり、発がん過程には多数の段階があることが明瞭になった。がん化に関係する要因も多数ある。がんの発生しやすい Li-Fraumeni 症候群には、がん抑制遺伝子の一種 p 53 遺伝子変化が、遺伝形質として存在している。細胞分裂の促進もがん化に関係する遺伝子変化の機会を多くする。また、ホルモン、環境や脂肪摂取等も、がん化の促進に作

用している。複雑多岐にわたる環境変異原を検出することの生物学的、医学的、公衆衛生学的意義を、十分に考える要がある。

日本では年齢構成で補正した胃がんの発生は著しく減少している。しかし国民の高齢化に伴う胃がん総患者数は減少していない。一度がんを治療した患者さんの中に、第二番目、第三番目の新しいがんが発生してくることもある。高齢化に伴いがん発生に関連する遺伝子変化が、まだがんにならない細胞の中に蓄積する。複雑ながん化の過程を考えて、環境変異原物質について、正にも負にも、複合効果を研究していくことが、本学会の将来にとり重要と思われる。本学会の創設に力のあった賀田恒夫博士は、desmutagen, antimutagen 等の概念を早くから提唱された。20周年を迎えるにあたり、本学会の進むべき方向を考えてみたい。

いくつかの今後の鍵となる問題にふれて見る。 (1) 環境変異物による動物実験でのがん原性の証明は、本来がん原性の有無を述べている定性的なものである。それを単純に定量的問題に役立てようとしてはいないか？ (2) 人間のがん細胞に見られる多重遺伝子変化に相当するものが、動物のがんについても報告されてはいるが、本質的にマウス・ラットの二年間という寿命で、何十年という経過をとる人間のがんを反映させることができるか？ (3) genomic instability の原因となる遺伝子変化により、多重遺伝子変化が起こるのではないか？ (4) 案外まだ発見されていない環境変異原物質があるのではないか？ 体内環境変異原物質に関心を向ける必要がないか？ 等等である。本学会の質、量共々に亘る発展と、ブレーク・スルーが起こる創造性エネルギーを期待している。

PL-1 変異原研究の現状と将来

早津 彦哉 (岡山大学・薬学部)

1. 変異原研究のひろがり

環境変異原の研究は環境中の変異原を対象としているのだが、それだけでは不十分で、実験室にしか見当らないような化学薬品による変異の研究も含む。従って、ここでは「環境」という制限を外して、変異原一般の研究について考えてみたい。「発がん物質は変異原物質である」というAmesの発表は、がん研究と変異原研究を強く結びつけることになり、変異原研究が人間の健康のために寄与しうるという考え方の基盤を作った。今日、がん研究が進むにつれて、発がんの過程で「変異」が複数回起こっている例が見つかってきた。環境の因子によってこのような多重変異がもたらされるのか、あるいはたまたま自然突然変異が追加的に起こったためなのかという問題もあるが、変異の研究は、このようにがん制圧という目的からも、益々重要であると考えられる。一方、環境変異原が持つうる作用の一つに、子孫への遺伝毒性があり、それには生殖細胞に及ぼす変異作用が問題となる。生殖細胞の変異は、一面では生物の進化に寄与してきたと言えるが、多くの環境変異原に人間が曝されるようになった現代社会で、これら変異原の遺伝影響が現われてくるのは、今後のことと思われる。

変異原の研究は以下に見るように、いろいろな分野に展開しつつある。しかしそのようないい「分野」を言いたてることは控え目にした方がよい。本学会が伝統的にとっている、大会は一回場で行なう方式、すなわち参加者各人が全体を通して聴けるというのが最も望ましいと考えられる。この学会は、もともといいろいろな分野の学者が寄り集って作ったものであり、それぞれの知識、技術を集めて、この研究を進歩させていくべきものである。

2. 変異原の探索

もうこれだけ沢山の変異原が見つかってしまっているのだから、これ以上はないのではないか、こう考える人は多いだろう。しかし私は、見つかっていないものがまだまだあるように思う。ジアルキルアミンと亜硝酸からニトロサミンが生成することや、食べ物を焼くことによってヘテロサイクリックアミンが生成することが発見され、大きなインパクトをもたらしたことは皆が知っている。人間の発がん原因として食物由来のものが大きな部分

を占めていると信じられるが、これらのすでに知られている変異原性発がん物質だけが全原因ではないかもしれない。そこで、食べ物、飲料、それもわが国だけでなく広い世界の各地のものにまで目を向ければ、新しい変異原の探索がいろいろとできるだろう。従来の探索研究では、変異原性をマスクする因子、例えば脂肪酸、の存在のため活性が見逃されていた場合がありうる。

わが国では法律の定めによって、医薬品、化粧品など化学物質は、世に出る前に必ず変異原性が調べられる。この中から新しいタイプの変異原物質が見つかる可能性もある。

環境の水域や大気を汚染する化学物質の中に変異原性を持つものが多数ある。これらの中に未知のものが潜んでいるかもしれない。

3. Assay法の発展

Ames法をはじめとする種々のin vitro変異原試験法が確立され、またin vivoの試験法も数多くできている。染色体異常や小核形成を指標とするin vivoテストは、遺伝子に直接損傷を与えない物質でも陽性になることがあるという問題を含みつつも、「genotoxicity」のassay法として確立した感がある。従来法では検出できなかった遺伝子損傷性を検出する、といった新しいタイプのassay法はさらに多く工夫されると思われる。また、これらのassay法の国際的標準実験法を立案する努力も続けてなされるであろう。

4. 変異原の検出、定量

ヘテロサイクリックアミン、アフラトキシン、ベンゾ(a)ピレンなどの既知変異原が、環境中でどこにどれだけ存在するかを知ることは大切である。そこでこれらの特定物質の検出、定量の方法が工夫され、発展してきた。技術開発に強いという特徴のある日本の科学が、この方面でさらに伸びる可能性は大いにある。

また一方で、人体が変異原にどれだけ曝露されたかを測定する方法の一つに、生体内変異原一高分子アダクトの測定がある。代表的な方法となった³²Pポストラベル法はわが国では未だ普及度が低いが、新しい情報も得られる利点を備えた方法であり、非放射性標識法への展開も含んで、さらに発展が期待される。

5. 変異原の働き方；メカニズム研究

アメリカ環境変異原学会の機関誌が「Environmental and Molecular Mutagenesis」と名付けられているのも、基礎的なメカニズム研究が重要なことの反映である。今後、微視

的なレベルでのメカニズムの研究が益々必要になると思われる。

5-1. 代謝活性化 変異原の大部分は代謝活性化されてからDNAと反応する。各々の変異原についての代謝経路—活性化だけでなく不活性化、排泄も含めて—の解明がさらに進むであろう。その中から新しい型の代謝活性化が見つかる可能性もある。

5-2. DNA損傷反応と損傷の性質 これはDNA化学／生化学の問題である。DNAをめぐるテクノロジーの最近の進歩と相まって、変異原のDNAへの攻撃の様子を調べる研究の発展が期待される。変異原物質の作用で生じた細胞内の二次的産物がDNA損傷性の本体である場合も、その変異誘導機構が解明されねばならない。DNAのメチル化で最も多く生成するN⁷-メチルグアニンよりも、少ししか生じないO⁶-メチルグアニンの方が生物への影響が大きいという話は、こういった微視的研究の重要性を示している。

5-3. 修復 放射線やアルキル化剤によるDNA損傷が、細胞内でいかに取り除かれて修復されるかの研究は、生物学の基礎的研究の一つでもあった。環境変異原の研究においても、これから見つかるかもしれない変異原も含めて、それらによる損傷を生物がどのように直すかを調べることは重要である。

6. 変異原性の修飾について

変異原の活性を減らしたり増したりする「修飾」の研究は、変異原の侵襲に対する防御、変異原発生の阻止などを目的としている。修飾はメカニズム研究の一部分とも考えられ、「なぜ修飾が起こるか」を明らかにすることが大切である。これらの研究から派生する修飾因子自体の性質解明も必要となろう。これは、代謝活性化研究で、活性化酵素自身を調べてゆくことと似ている。「修飾」の中には、変異原物質同志の間の相互作用も含まれる。

7. 結び

環境変異原の研究の中で、何といっても重要なのは、未だ知られていなかったか、知られていてもその重要性が認識されてなかったような変異原性因子を見出すことであろう。最近のそのような例として、活性酸素があげられる。他の例としては、水道水の中に見つかった塩素化フラン誘導体MXがある。MXはしかし、その水の変異原性の一部しか説明せず、他に何があるのかの問題がある。

これからも、影響力のある新しい発見が続々と出現することが期待される。

MEMO

特別講演Ⅱ

PL-2 BIOACTIVATION OF PRO-MUTAGENS BY OXIDATION AND GLUTATHIONE CONJUGATION

F. Peter Guengerich

Department of Biochemistry and Center in Molecular Toxicology,
Vanderbilt University School of Medicine, Nashville, Tennessee
37232 U.S.A.

The overall process by which pro-mutagens are activated and cause mutations is complex. However, in recent years it has become possible to gain insight into several aspects of the activation catalyzed by cytochrome P-450 (P-450) oxidation and glutathione (GSH) S-transferase conjugation. Areas that will be considered include: i) elucidation of which of the individual P-450 and GSH S-transferase enzymes are most responsible for the activation or detoxication of each pro-mutagen; ii) details of the mechanisms of activation of chemicals by oxidation and conjugation, including chemical and physical aspects; iii) elucidation of the chemistry of DNA adduct formation; and iv) investigations into mechanisms of base pair mutation by defined DNA adducts. A need also exists to develop better approaches to considering non-genotoxic carcinogens—some insight is possible when receptor-mediated mechanisms are involved.

Catalytic specificity of enzymes

In human liver, P-450s 1A1, 1A2, 2E1, and 3A4 play major roles in the activation of carcinogens (1,2). P-450 1A1 activates polycyclic hydrocarbons, and P-450 1A2 appears to be the main catalyst in the activation of arylamines such as those found in broiled food and cigarette smoke. P-450 2E1 activates nitrosamines, urethan, halogenated hydrocarbons, and vinyl monomers. P-450 3A4 oxidizes aflatoxins, pyrrolizidine alkaloids, some polycyclic hydrocarbon dihydrodiols, and certain arylamines. The catalytic selectivity of human GSH S-transferases has not been studied as extensively and few non-invasive approaches are available.

Elucidation of catalytic mechanisms

GSH S-transferases appear to function by deprotonating GSH. Recent work by Armstrong has provided a 3-dimensional structure of rat GSH S-transferase 3-3. The chemistry of P-450s is understood in terms of the abstraction of electrons and hydrogen atoms by $(FeO)^{3+}$ species, followed by radical recombination (3). Work is in progress that should provide detailed views of tertiary structures in the future, although some insight is now possible with active site modeling.

Chemistry of DNA adduct formation

Many DNA adducts have been characterized, and it is possible to rationalize the chemistry of adduct formation by considerations of nucleophilicity and hard-soft acid-base theory, as proposed by Dipple (4). Our own efforts in this area have focused on the mechanism of etheno adduct formation by halooxiranes and the adducts formed by GSH-ethylene dihalide conjugates (5).

Mechanisms of base-pair mutation

The model used in our laboratory is the adducts formed from GSH-ethylene dihalide conjugates. *S*-[2-(*N*⁷-Guanyl)ethyl]GSH appears to be the most genotoxic adduct in this group (5). Consideration of the mutation spectrum (in bacteriophage M13mp18) and UV, CD, and NMR studies with modified deoxyribonucleotides suggest that mutations are not simply the result of mispairing of the modified base with an abnormal nucleotide. Ultimately mutagenesis needs to be understood in physico-chemical terms involving the polymerase complex.

References

1. Shimada, T., Iwasaki, M., Martin, M.V., and Guengerich, F.P. (1989) *Cancer Res.* 49, 3218-3228.
2. Guengerich, F.P., and Shimada, T. (1991) *Chem. Res. Toxicol.*, in press.
3. Guengerich, F.P., and Macdonald, T.L. (1990) *FASEB J.* 4, 2453-2459.
4. Moschel, R.C., Hudgins, W.R., and Dipple, A. (1986) *J. Org. Chem.* 51, 4180-4185.
5. Humphreys, W.G., Kim, D-H., Cmarik, J.L., Shimada, T., and Guengerich, F.P. (1990) *Biochemistry* 29, 10342-10350.

Studies in this laboratory supported in part by USPHS grants CA 44353 and ES 00267.

受賞講演

AL 食品・医薬品由来の変異原物質の分離・同定とその生成機構

菊川清見 (東京薬大・一衛生化)

癌の発生には多くの環境因子が関与しているが、なかでも食品が大きな要因となっている。食品も加熱加工によって、また消化管内の条件によって変異・発癌物質に変化する可能性がある。長期連用される経口医薬品についても消化管で変異・発癌物質に変化する可能性がある。

既に畜肉の焼け焦げの中に、トリプトファンから生じる Trp-P-1、クレアチニン・アミノ酸・糖の混合物から生じる IQ など 20 種近くのいわゆる変異・発癌性ヘテロサイクリックアミンの存在が明かにされている。加熱・加工して製造される市販の食品中の変異・発癌物質の存在について、早津らの開発した青綿吸着法によってスクリーニングを行った結果(1)、わが国独特の調味料である、かつお節、さば節、およびダシの素、健康食品として市販されている卵の油、さらに万国共通のし好品であるコーヒー煎り豆にヘテロサイクリックアミン特有の活性が認められた。かつお節、さば節およびダシの素には MeIQx および 4,8-DMeIQx が存在し(2-4)、これらの変異原物質は、かつお節またはさば節の煮熟、ばい乾、かび付けの 3 製造工程のなかの、長期にわたって加熱・脱水・薰蒸するばい乾工程で生成する。煙の付着しやすい表面部分よりも内部に生成しやすく、内因性の成分によることがわかった(5)。また脱水しないで同じ温度で加熱した場合には生成し難いことから、これら変異原の生成には加熱と同時に水分活性も重要であることがわかった(6)。かつおやさば以外の魚でもこれら変異原物質はできるが、かつおが最もできやすい(7)。かつおは直火で焦がした場合、MeIQx よりも IQ, MeIQ, Glu-P-2 の画分の方が活性が強く、加熱方法の違いによって生成する変異原の種類も異なる。卵の油は卵黄を高温で加熱して製造した市販の健康食品であるが、これには Glu-P-1 および IQ が存在する(8)。コーヒー煎り豆はコーヒー豆を熱風あるいは炭火などでばい煎して製するが、煎り豆をメタノールとアンモニアの混液で抽出することにより、再現性よく変異原物質の検出ができた。変異原物質は MeIQ をはじめとして 5 種類以上の未知のヘテロサイクリックアミン変異

原物質であった(9,10)。変異原物質の量は熱風ばい煎より、炭火焼、さらに高温加熱の方が多く、コーヒー豆成分の加熱によって生成したものであることがわかった。変異原物質はコーヒー煎り豆の纖維分に強固に付着しており、熱湯抽出では溶離しない。また、変異原物質はコーヒー中のポリフェノールと酸素によって分解をうけて変異原性を失う(11)。

野菜に含まれる硝酸塩は口くう細菌の還元酵素によって亜硝酸塩になり、胃内の酸性条件下、食品や医薬品由来のアミン類と反応して発癌性ニトロソアミンを生成することで問題視されている。一方、食品中には多くのフェノール性化合物が含まれており、醤油に含まれるチラミンも亜硝酸と反応して変異原性ジアゾチラミンを生成することがわかっている。同様のフェノール性化合物である薰製品中のフェノール(12)、長期にわたって経口的に服用される降圧剤のバメタン(13)やエチレフリン(14)も亜硝酸と反応して変異原性のジアゾキノン型化合物を生成する。これらジアゾキノン型化合物はニトロソアミンとは異なり、代謝的に活性化されることなく変異原活性を示す。ジアゾキノン型変異原物質は、フェノール性化合物にニトロソ化が起こりこれに亜硝酸が反応して生成するので、フェノール化合物より亜硝酸の方が多量存在する場合に生成する。ジアゾキノン型変異原は直接 DNA に反応して、DNA 鎮切断とプリン塩基部の 8 位への置換反応を起こすが、この反応はヒドロキシフェニルラジカルを介して起こっていることがわかっている。

文献

1. 食衛誌、26, 432 (1985).
2. Mutation Res., 158, 35 (1985).
3. Jpn. J. Cancer Res., 77, 99 (1986).
4. J. Agric. Food Chem., 34, 810 (1986).
5. 衛生化学、32, 379 (1986).
6. 衛生化学 33, 62 (1987).
7. Mutation Res., 179, 5 (1987).
8. Mutation Res., 240, 259 (1990).
9. J. Agric. Food Chem., 37, 881 (1981).
10. 衛生化学、35, 370 (1989).
11. Mutation Res., 246, 161 (1991).
12. Food Chemical Toxicol., 26, 207 (1988).
13. Mutation Res., 177, 35 (1987).
14. Chem. Pharm. Bull., 37, 1600 (1989).

シンポジウム

S-1 ニトロピレンの代謝的活性化機構

○大西克成、木内武美、片岡圭子、宮西幸一（徳島大・医）

1-ニトロピレン（1-NP）の生体内での代謝活性化機構としては、ニトロ基を還元して、ニトロソ体やヒドロキシアミノ体に活性化する場合と、ピレン環を酸化してエポキシ体に活性化する場合とが考えられている。

我々が無菌ラットに1-NPを経口投与して、その尿と糞便中の代謝産物を調べたところ、amino体やacetylamin体は殆ど検出されず、nitrohydroxypyrenesや4,5-dihydro-4,5-dihydroxy-1-NPしか検出されなかったので、ラット肝臓では1-NPは主として酸化的に代謝されるだけであり、通常ラットで検出される還元体は腸内菌によって生成されたものと考えた。さらに、肝臓DNAの付加体を調べると、還元的活性化体のDNA付加体であるN-(deoxyguanosin-8-yl)-1-aminopyreneは殆ど検出されず、大部分は4,5-epoxy-4,5-dihydro-1-NP (1-NP 4,5-oxide) と1-NP 9,10-oxideとのDNA付加体であった。つまり、1-NP投与ラットの肝臓では、1-NPは1-NP 4,5-oxideと1-NP 9,10-oxideになり（活性化経路）、DNAに結合しないときは、これらがepoxide hydroraseで水酸化されてdihydrodiolsに解毒されるか（さらに、これらはglucuronideかsulfateの抱合体になる）、oxidesがグルタチオン抱合体になる（解毒経路）。1-NPの活性化経路のヒトの酵素活性はマウスに似て弱く、解毒経路のヒトの酵素活性は強くてイヌに似ていた。一方、マウスの解毒経路の活性は他の齧歯類（ラット、ハムスター、モルモット）に似ており、イヌの活性化経路の活性はモルモットに似ていた。何れにしろ、ヒトと同じ強さの代謝活性をもつ動物はなかった。

通常動物では、1-NPの解毒抱合体であるglucuronideとsulfateが胆汁中に排泄されると、下部腸管の腸内菌によって脱抱合され、ニトロ基はアミノ基に還元され、再度一部は吸収され、肝臓でアセチル化されて、再度抱合体となる。一方、グルタチオン抱合体は、胆汁中に排泄された後、主として肺液中の γ -glutamyltransferaseによって、cysteinylglycine抱合体となり、さらに、aminopeptidaseによってcysteine抱合体になり、大腸へ移行し、そこの腸内菌のcysteine conjugate β -lyaseによってチオール化合物になる。このチオール化合物またはそのメチル化体は、再吸収され、新たに活性化体として働く。このことは、腸粘膜細胞DNAに新しいDNA付加体が検出されることから判る。このように解毒抱合体が腸内菌によって再活性化される場合がある。このことは変異・がん原物質の代謝におけるだけでなく、一般の薬物代謝を考える上でも重要である。つまり、ある化学物質の生体毒性が検出されたときは、腸内菌によってその毒性誘起物質が生成されたり、腸内菌の作用によって再吸収されて毒性を発揮していたり、腸内菌が毒性を誘起・促進していたりする場合が考えられるからである。

シンポジウム

S-2 がん原性芳香族アミン類を活性化するチトクロームP-450

○出川雅邦、橋本嘉幸（東北大、薬、衛生化学）

がん原性芳香族アミン類は、生体内で代謝的活性化を受け、はじめてがん原性を獲得する。この代謝的活性化には、アミノ基Nの水酸化、さらにそのエステル化が重要であることが知られている。P-450は最初の活性化（N-水酸化）反応を触媒する酵素であり、細胞の小胞体（ミクロソーム画分）に多く存在している。P-450には多くのアイソザイムが存在し、その分布パターンは組織によって異なっている。また、異物代謝に関わるP-450アイソザイムは異物投与により誘導されるが、その誘導パターンにも、動物種差、性差や臓器差が見られる。これらの知見は、がん原性化合物による発がんの動物種差、性差や臓器差が、少なくとも一部、各動物あるいは臓器のP-450アイソザイム発現パターンの相違に起因している可能性を示唆している。

そこで、発がん性に動物種差や性差が報告されている肝を主な標的臓器とする芳香族アミン類（4-アミノアゾベンゼン誘導体およびアミノ酸あるいはタンパクの熱分解成分）に注目し、これら発がん剤の活性化（N-水酸化）に関わるP-450アイソザイムを検索するとともに発がん剤投与時における種々動物、臓器における本酵素の誘導性（活性）を酵素学的および免疫化学的手法を用い測定した。その結果、がん原性芳香族アミン類には、共通して発がん剤自身の活性化に関わるP450IA2を標的臓器の肝に選択的に誘導する性質があること、また発がん剤投与時における本酵素の誘導性（活性）は、各動物のこれら発がん剤に対する発がん感受性と正の相関を示すことが明らかになった。以上の結果より、がん原性芳香族アミン類の活性化（N-水酸化）に関わるP450IA2の各動物、臓器における誘導性（活性）は、その動物臓器の発がん感受性を支配する一要因となることが明かとなった。

シンポジウム

S-3 変異・がん原性物質を活性化する第I相酵素

○鎌滝哲也 (北大・薬・薬品分析化)

【第I相反応に関する酵素】薬物代謝の第I相反応に関する酵素には、チトクロームP-450を始め多数の酸化還元酵素、水解酵素がある。その内変異原・がん原性物質の活性化に大きな役割を担っている代表的酵素として、チトクロームP-450、プロスタグランジン合成酵素、エポキシド水解酵素を挙げることができる。そこで、これら3種の酵素について最近の研究の概略を紹介する。

【ヒト発癌リスクの予測に対するアプローチ】変異・がん原性物質を活性化する酵素に関する研究の究極的な目標の1つは、ヒトにおける発癌リスクの予測である。この目標に対する明確なアプローチが今日最も強く求められていると言っても過言ではない。そのアプローチの一端として演者らの研究室で行なってきたイヌやサルおよびヒトのチトクロームP-450についての研究を紹介する。第一のアプローチとして極く微量に摂取される変異・癌原物質が実際にヒトのチトクロームP-450で活性化されるか否かを検証した。この目的のため、変異原の活性化系としてヒトや動物の肝ミクロソームを用い、種々の濃度の変異原物質アッセイ系に加えた。実験結果を整理して V_{max}/K_m を求めた。この値が大きい程微量の変異物質でも肝ミクロソームのチトクロームP-450によって効率よく活性化されることを意味する。未だ例数が少ないので結論することはできないが、ヒトの肝ミクロソームによってIQおよびMeIQは効率よく活性化され、その V_{max}/K_m は極めて高い値を示すことを見い出した。このことはIQやMeIQがヒトにおける発癌リスクが高い物質であることを示唆する。第二に、イヌ又はサルのP-450IA1のcDNAを用いて、これらを酵母に発現させ、その変異原活性化能を調べた。この系は単一の酵素を大量に得、その機能を解析するために有用である。また、同じcDNAを用いて、酵素をがん細胞に発現させ、細胞内で生成した活性代謝産物による細胞毒性と突然変異を調べる系を確立した。さらに、動物の体内に発現したチトクロームP-450が変異原・癌原物質を活性化し突然変異に関与することを直接証明するために、初めての試みとしてイヌのP-450IA1を発現するトランスジェニックショウジョウバエの作出にも成功した（三菱化成、吉川らとの共同研究）。このトランスジェニックショウジョウバエはDMBAに対して高い感受性を示した。

シンポジウム

S-4 変異・がん原性物質を活性化する第II相酵素

山添 康 (慶大・医・薬理)

バクテリアや哺乳動物細胞に変異・がん原性を示す物質は様々な構造を持ち、その多くは"代謝的活性化"と呼ばれる酵素的な変換を受けてその作用を発揮する。生体内の酸化/還元系によって生成した1次代謝物は通常第II相酵素によってより水溶性に富む抱合体として排泄される。第II相系の酵素にはグルクロニルトランスフェラーゼ、スルホトランスフェラーゼ、グルタチオントランスフェラーゼ、アセチルトランスフェラーゼなどがあり、これらは主に解毒的に機能している。しかしながら抱合によって化学的に不安定な代謝物が生成する場合があり、この様な系では化学物質の変異原性、毒性あるいはがん原性の発現が結果として促進される。

従来から用いた動物の種や性の違いによってin vitro試験系における変異原活性化に著しい差のあることが知られている。これらの幾つかは第II相系酵素の含量や基質特異性の差に起因する。例えばラットでは第I相系酵素と同様、スルホトランスフェラーゼなどの含量は内分泌ホルモンによる調節を受けており、動物の令、性、生理的あるいは病態によってこれら個々の肝代謝酵素系の様相は著しく異なる。

これらのことから変異原の検出に当たっては反応系に使用する肝酵素標品を常に一定の条件に保つことも重要であるが、肝酵素標品に含まれる酵素系および基質特異性を考慮してラット以外の動物種や異なる処置を行なった動物を用いて検出を試みることが必要であろう。またサルモネラに哺乳動物等の代謝酵素系を導入することによっても、変異原性の検出感度および検出スペクトラムを改善することが可能である。

ワークショップ

W-1 医薬品における非変異・がん原性物質調査の立場から

津志本 元 (大塚製薬・徳島研究所)

齧歯類の皮膚がんが、Initiationと言う遺伝的傷害(広い意味での変異)による過程とPromotionと言う非遺伝的な(変異によらない)作用による過程で進行すると言う古典的な発見は、現在、他の種々の臓器の発がん過程にも適応できることが示されている。前もって実験的にInitiateされた細胞をもつ個体に、発がんプロモーターだけの投与で腫瘍を誘導できることが証明されている。この非遺伝的な発がん過程には細胞の増殖が大きな役割をはたす。さらに、遺伝的傷害と細胞増殖が相まって、がん化が悪性の方向に進行すると考えられている。

医薬の開発においては、特別のLife savingな領域の化合物を除いては、開発過程の早い時期に変異原性(広い意味での変異原性、-遺伝毒性-)を持つ化合物は除かれてきた。しかし、がん原性試験で陽性結果を示す化合物も多く報告されている。これらのいわゆるNon-genotoxicなCarcinogenを取り上げ、その発がん性、発がんの機構及びRiskについて既存の文献を調査したので、問題点を含めて報告したい。

例示する化合物として、医薬品のフェノバルビタール、エチニルエストラジオール、メタピリレン、塩素系殺虫剤のDDT等、食品添加物のナトリウムサッカリン等をあげ、それらについての変異原性試験結果、齧歯類での発がんにおける種差、系統差、性差、発がんプロモーター活性、細胞間連絡に対する影響及び細胞レベルでみられる特性について述べる。さらに、それらの化合物の利用について種差や使用量等の点から、どう考えられているかについてふれる。本調査は一昨年より製薬協医薬品評価委員会基礎研究部会第3分科会のCグループで検討されてきたものである。

ワークショップ

W-2 変異原性試験実施の立場から

吉川邦衛(三菱化成・総合研究所)

“変異原性物質=がん原性物質”の式が、変異原性試験の実施目的の大部分を支えてきたが、この式に対する批判が当初から依然としてくすぶり続けている。我々は、このような批判に今どのように対処すべきなのか、この点を一部明らかにするために、本ワークショップが開催されたものと理解している。

変異原性試験に対する主な批判原因は、Ames試験は多くのがん原性物質を陰性とし、染色体異常試験とマウス小核試験は多くの非がん原性物質を陽性とする、の2点に要約できる。多くの非がん原性物質を陽性とする試験法は論外であるので、本ワークショップのテーマである『非変異・がん原性物質』の対象は、Ames試験陰性のがん原性物質にしほる。この種の『非変異・がん原性物質』の数は現在200例ほどがあげられ、その化学構造は多種多様であるがその内、30%以上のものが多塩素置換化合物に分類できる。

これらの『非変異・がん原性物質』は今大胆に推定すると、Ames試験では検出ができない極めて微量の発がんイニシエーション活性をもちながら、大部分が発がんプロモーション活性で占められている complete carcinogensと考えられる。

つまり、発がんプロモーターとして分類されているフェノバルビタールなどは、動物に単独処理したとき、がん原性を誘発する。これらのがん原性をもつ発がんプロモーターは、生体内で活性酸素などを始めとする発がんイニシエーターを生成し、それ自身が同時に発がんプロモーション活性をもつものと考えられる。

したがって、今まで発がんプロモーターとして分類されている化学物質は、動物に単独処理したときのがん原性の有無で分ける必要がある。このとき、がん原性をもつ発がんプロモーターが『非変異・がん原性物質』そのものであろう。

この『非変異・がん原性物質』を検出するためには、新たに発がんプロモーション活性部位を調べる手段が必要となる。ただし、この発がんプロモーションの検出法は従来のものと異なり、TPAなどの純粹な発がんプロモーターを検出することなく、発がんプロモーション活性が大部分を占めるcomplete carcinogensのみが陽性となる試験法が、以上の『非変異・がん原性物質』の検出に有効である。

この種の試験法として、現在検討中のラット肝RDS試験はAmes試験陰性のラット肝がん原性物質の80%(12/15)を陽性とし、また非がん原性物質の89%(16/18)を陰性にしている。以上の事実から、多種多様ながん原性物質の検出にはAmes試験を補完する意味で、がん原性をもつ発がんプロモーターの新たな検出法が必要となる。

ワークショップ

W-3 変異原性物質の代謝研究の立場から

○奥田晴宏、小倉健一郎、平塚 明、渡部 烈
(東京薬大・2衛生化)

変異原性物質の多くは代謝をうけ、反応性に富む代謝物となって始めて活性を発現する。微生物が持つ薬物代謝酵素系は哺乳動物のそれとは異なるため、変異原性試験を行う際には、外部から代謝活性化系を添加する必要がある。このため、Ames 試験においてはいわゆる S9mix (S9-NADPH系) が用いられる。しかし、S9mix の添加は、in vivo で生じる多様な薬物代謝反応のうち、第I相反応（主にチトクローム P-450 による酸化的代謝）の関与する代謝活性化に対しては有効に機能するものの、第II相反応（抱合反応）関与の活性化には不適切である。

変異原性を論じるには、被検物質の代謝活性化機構を究明し、それに応じた活性化系を添加する必要がある。この様な見地から我々は、第II相反応の中でもスルホトランスフェラーゼ(ST)による硫酸抱合関与の代謝活性化機構に関して研究を行ってきた。

その結果、がん原性ヒドロキシメチルアレーン（ヒドロキシメチルベンズ [a] アントラセン類、5-ヒドロキシメチルクリセン、9-ヒドロキシメチル-10-メチルアントラセン）はいずれも無処置ラット肝 S9-NADPH 系共存下よりもラット肝可溶性画分 (S105)-PAPS 系 (STによる活性化系) 共存下著しく強い変異原性を *S. typhimurium* TA98 に対して示すことを明らかにした。ラット肝 ST によるヒドロキシメチルアレーンの活性化には顕著な性差が存在し、雌 S105-PAPS 系を用いた場合の方が雄 S105-PAPS 系を用いた場合よりも TA98 に対し強い変異原性を惹起した。我々は、この S105-PAPS 活性化系中よりきわめて反応性に富むヒドロキシメチルアレーンの対応する硫酸エステル類の単離に成功した。これら硫酸エステル類は、直接作用性の強変異原性物質であった。硫酸エステルによる DNA の修飾は、硫酸基の脱離を伴い生成したアリールメチレンカルボニウムイオンが、DNA のアデニンおよびグアニンの環外アミノ基と反応し共有結合を形成することにより生じることを、DNA 付加体を単離、構造決定することにより明らかにした。現在、このヒドロキシメチルアレーンを活性化する ST は我々により雌ラット肝から単離精製され STa と命名され、cDNA クローニング法によりその1次構造が明らかにされた。

ワークショップ

W-4 活性酸素研究の立場から

葛西 宏 (国立がんセンター研・生物学部)

演者らは 1982 年頃から環境変異原、特に食品中の直接変異原 (direct mutagen) による DNA 損傷の有機化学的研究をおこなっていた。モデル実験として加熱グルコースによる DNA 損傷を調べたところ主要産物として 8-ヒドロキシグアニン (oh^8Gua) が生成していることがわかった。その後、この oh^8Gua の生成には活性酸素が関与することが判明した。 oh^8Gua はタバコの煙濃縮物、アベスト、ニッケル化合物、放射線、喫みタバコなどのヒト発がん因子により DNA 中に生成する。 oh^8Gua は HPLC に接続した電気化学検出器 (ECD) により高感度に分析できるので細胞内 DNA 中にも見い出されている。活性酸素を発生する種々の化学発がん物質をラットに投与することにより標的臓器 DNA 中に特異的に oh^8Gua が生成した。 oh^8Gua を含むファージ DNA を大腸菌に感染させると GC → TA トランスバージョンが起こる。大腸菌や哺乳動物細胞には oh^8Gua の修復酵素が存在する。大腸菌から精製された oh^8Gua エンドヌクレアーゼは、まず oh^8Gua を DNA から遊離させ、次いで、生じた脱プリン部位の 5' 側および 3' 側で DNA 鎖を切断する。その後の研究によりこの酵素は既に報告されている PapY (開環グアニン) グリコシラーゼと同一酵素であることがわかった。この修復酵素の欠損により GC → TA トランスバージョンが 10 倍以上に高まるという研究結果が J.H. Miller らにより報告されており、 oh^8Gua の生成が大腸菌の自然誘発突然変異に深く関わっている可能性が示唆された。動物発がん実験ではニッケル化合物により生じた腫瘍の K-ras 遺伝子のコドン 12 における主要突然変異が GC → TA であることが報告されている (K. Kasprzak ら)。またヒト腫瘍 (肺および肝) の p53 がん抑制遺伝子でも多くの GC → TA 変異が見い出されている (C.C. Harris ら)。これらの結果は、 oh^8Gua の生成が発がんに関与している可能性を示唆している。

以上、われわれが見い出した DNA 損傷 oh^8Gua を例にとって活性酸素と発がんの関係を述べた。放射線のみならず、環境発がん因子の中には酸化的 DNA 損傷を引き起こすものが多く、活性酸素はヒト発がんの原因を探る上で重要な研究テーマと思われる。

ワークショップ

W-5 発がん性試験実施の立場から

黒川雄二（国立衛生試験所安全性生物試験研究センター毒性部）

発がん性試験の歴史を見ると、先ず1930年代から1960年代にかけて強力な変異原性を有する発がん物質（芳香族炭化水素、ニトロソ化合物など）が合成され、専ら種々の発がん標的臓器における発がん実験モデルを作成することを目的として、比較的少数の動物を用いた短期の試験が行なわれた。1970年代に入りAmes testが導入され、上記の既知発がん物質と変異原性の間に極めて高い相関関係が認められ注目を浴びた。一方、同じ頃から環境化学物質の発がん性検索の為により多数の動物を用いる長期の試験が世界的に開始され、その当初は変異原性を有する物質が優先的に選ばれ試験されていたが、次第に生産量、使用量、暴露量などに基づいて被験物質が選択されるようになった。その結果いわゆるnon-mutagenic carcinogenの存在が明かとなり代表的なものとして、ペルオキシゾーム増殖剤（抗高脂血剤、プラスチック可塑剤）、肝毒性物質（DDT、PCB、ダイオキシン、四塩化炭素）、腎毒性物質（鉄ニトリロ三酢酸、クロロホルム）、抗酸化剤（BHA、BHT）、物理的要因（アスベスト、ウラシル）、ホルモン剤（エストロゲン、チオウレア）などがある。我々は厚生省がん研究助成金研究班「変異原性を持たない物質による動物発がんとその評価」を組織し、ペルオキシゾーム増殖剤、腎毒性物質が活性酸素によるDNA傷害を生ずること、ウラシルが細胞増殖を刺激することを見いだした。一方、米国NTPでは十数年前から大規模な既存化学物質の発がん性試験を行なってきているが、これまでの結果から発がん性陽性であった物質の中の約3分の1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明かとなり、これらはnovel chemical carcinogenと名付けられており、特に標的臓器への毒性と細胞増殖刺激の面から解析がなされている。現実に環境化学物質（医薬品、農薬、食品添加物、工業薬品、化粧品等）の開発段階に於て、mutagenicな物質はごく一部を除いては取り上げられない事実を見ると今後、ほとんどがnon-mutagenicな物質での発がん性試験となることは自明である。従って益々いわゆるnon-mutagenic carcinogenの増加が予想され、その機構解明、新しい短期試験法の開発、リスクアセスメントの方法などが今後の重要な課題であろう。

一般口演

W-2 発がん性試験法の実験

農林省農業生物試験研究センター

発がん性試験の歴史と方法

発がん性試験の実験法とその問題

O-1

In vivo-in vitroラット肝RDS
(複製DNA合成) 試験を用いる非変異・肝
がん原性物質の早期検出 (第2報)○宇野芳文¹、高沢博修¹、宮川誠²、井上
由起¹、村田妙子¹、吉川邦衛¹ (1三菱化成
総研・安全性研、2(株)三菱化成安全科学研)【目的】 In vivo-in vitroラット肝RDS試験
が、Ames試験で陰性を示すいわゆる非変異・
肝がん原性物質の短期検索法として有用である
か否かを検討した。【被験物質】 前回報告したものも含め、非変
異・肝がん原性物質としてmethyl carbamate
など15検体、他臓器がん原性物質として
diethyl phthalateなど7検体、非がん原性
物質として2-chloroethanolなど18検体を用
いた。【方法】 9週齢の雄性F344ラットに被験物質
の最大耐量(MTD)および1/2MTDを単回強制経口
投与し、経時的(投与後24~48時間)に肝RDS
の誘発を観察した。観察は、コラゲナーゼ灌
流法で調製した遊離肝細胞を³H-チミジン共
存下で4時間培養後、オートラジオグラフを作
製し顕微鏡下で行った。2000個の肝細胞中
2.0%以上のRDS誘発細胞が存在した場合を陽
性、1.0%未満の場合を陰性と判定した。1.0
~2.0%の場合は、さらに投与後時間を固定し
た用量反応性を検討し、その結果RDS誘発に
再現性(1.0%以上)がみられたときを陽性、再
現性がなかったときを陰性と判定した。【結果】 非変異・肝がん原性物質の80%
(12/15)、他臓器がん原性物質の29%(2/7)が
陽性と判定された。また非がん原性物質の89%
(16/18)が陰性と判定された。【結論】 In vivo-in vitroラット肝RDS試験
は、肝臓に対する非変異・がん原性物質を特
異的に検出した。また、非がん原性物質の陰
性検出率も高く、偽陽性結果の少ない試験法
であることが判明した。これらの結果から、
本試験法の総合検出力は85%(28/33)であり、
非変異・肝がん原性物質のスクリーニング法
として極めて有効であるものと結論した。今
後、マウス肝や他臓器(腎臓など)のRDS試験
法を検討する予定である。

O-2

トランスジェニックショウジョウウ
バエの変異原性試験への適用○馬場博¹、蒲谷京子¹、井上裕章¹、吉川邦衛¹、
北村龍司²、小森雅之²、鎌滝哲也²
(1三菱化成 総研、2北大 薬)【目的】 ショウジョウウバエ変異原性試験は、
代謝的活性化を必要とするある種の前がん原
物質に対して検出感度が低い。この弱点を補
うために、ハエ体内に哺乳動物の薬物代謝酵
素を発現させる方法を立案した。今回、イヌ
のチトクロムP-450 I A 1遺伝子(Dah1)
を組み込んだトランスジェニックハエ(TD-Da
h1)をDNA修復試験に適用し、その有用性
を検討したので報告する。【方法】 DNA修復試験には、mei-9^a mei-
41^{D5} / C(1)DX, y^f 系統にDah1を導入した新
系統を使用し、前がん原物質を含む餌を幼虫
に摂食させた。前がん原物質が代謝的活性化
をうけて誘発するDNA損傷を、DNA修復能
を欠損する雄の致死感受性を指標として検
出した。熱ショックプロモーターの制御下に
あるDah1の発現を促進するために、被験物質
の摂食前に幼虫を熱ショック処理(37 °C, 1
時間を2回)し、致死感受性を非処理群のそ
れと比較した。【結果と考察】 7,12-Dimethylbenz[a]anthracene(DMBA)に対する致死感受性は、熱ショ
ック処理群で、Dah1をもつ雄がそれをもたない
雄よりも著しく上昇した。この致死感受性
の上昇は、P-450 I Aの特異的阻害剤である
α-naphthoflavoneの同時摂食により抑制
されたが、P-450 II Eの阻害剤diethylthiocarbamic acidは全く効果を示さ
なかった。以上の結果は、熱ショックでハエ
の体内に発現したイヌのP-450 I A酵素
がDMBAの代謝的活性化に関与したことを示唆
する。同様の致死感受性の上昇はbenzo[a]-
pyrene, Trp-P-2, 2-acetylaminofluoreneでも
認められた。【結論】 TD-Dah1は、DNA修復試験の前が
ん原物質に対する検出感度を向上させた。今
後、ヒトのP-450遺伝子をショウジョウウ
バエに導入することで、ヒトの発がんリスク
が評価できるシステムを開発できるものと期
待される。

O-3

iPMSのMutaMouse雄生殖細胞処理による遺伝子突然変異の検討

○加藤基恵¹、猪股智夫²、鈴木文子¹、石原尚古¹、日柳政彦³、濫谷徹¹、K. Intehar⁴、B. C. Myhr⁴ (¹食品薬品安全センター、²麻布大学、³日本医科学動物資材研究所、⁴Hazleton)

[目的] isoPropyl methanesulfonate (iPMS)をマウスの精子および精子細胞へ処理した場合、受精後の1細胞期胚での染色体異常は低頻度であるにもかかわらず、優性致死突然変異は高頻度誘発される (KatoとIwahara, 1983)。今回は、iPMSによる優性致死(胚の致死)がおもに遺伝子突然変異によるのか、MutaTM Mouseをもちいて検討した。

[方法] iPMSの200 mg/kgを雄MutaTM Mouseの腹腔内に単回投与し、投与3日目および12日目に精巣上体尾の精子よりDNAを抽出し、Myhrらの方法で遺伝子突然変異の検出を行なった。

[結果] iPMS投与群において誘発された遺伝子突然変異の誘発率は優性致死突然変異誘発率と比較し、低頻度であった。

[結論] iPMSのマウス雄生殖細胞処理による優性致死突然変異はMutaTM Mouseの試験系では検出されにくい他のDNA傷害に起因している可能性が示唆された。

O-4

洗剤主成分に対するヒト精子とマウス精子の感受性の差

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

雄マウスより採取した精子を石ケンあるいは linear alkylbenzene sulfonate (LAS) で処理した後マウス卵に媒精させ、侵入した精子の頭部膨潤を指標に、マウス精子の受精能に対する洗剤主成分の影響を検討した。0.01 % LAS 処理で対照の 80 % の受精能となり、0.02 % では受精能を全く喪失した。これに対し石ケン処理では 0.05 % まで受精能の低下はほとんどみられなかった。透明帯をはずしたハムスター未受精卵への媒精、頭部膨潤を指標に、ヒト精子で同様の検討を行なったところ、LAS ではマウス精子の場合と同様の受精能の低下をみたが、石ケンに対してもかなり高い感受性を示した。0.02 % で対照の約 60 %、0.04 % で約 20 % の受精能となり、0.06 % では全く受精能が見られなかった。LAS に対してはヒト、マウス精子とも同じ感受性を示すが、石ケンに対してはヒト精子の方がはあるかに感受性が高い。前々回の本大会でマウス受精卵の発生に対する洗剤主成分の影響を報告し、石ケンでは影響がみられないことを示したが、今回の結果を加味すると、ヒト受精卵の発生に石ケンが影響を与える可能性も否定できないと思われる。

O-5

遺伝疫学指標としてのリンパ球小核形成—培養ヒトリンパ球における因子作用機作および小核規模の検討

○牟礼佳苗、小倉裕子、森本兼義(阪大医)

環境変異原・癌原性物質のヒト染色体に与える影響を、in vitro小核試験を指標として、作用機作の異なる2薬剤を用い、培養方法と小核の規模について比較検討した。

被検物質として、mitomycin C (以下MMC) と colchicine (以下COL) を用い、濃度を MMC が $3 \times 10^{-9} \sim 3 \times 10^{-7}$ (M)、COL は $1 \times 10^{-10} \sim 3 \times 10^{-8}$ (M) として、従来法と、cyto-block (以下CB) 法の2法で、培養時間を48時間と72時間として検討した。

培養時間の小核形成への影響を比較したところ、MMCでは、CB 法および従来法とも差がなく濃度依存的に小核数は増加し、COL でも濃度依存的に増加したが、両方法において72時間培養の方が高かった。

MMCにおける CB 法と従来法の検討では、小核形成には差がみられなかったが、COL においては、CB 法の方が高い形成頻度を示した。

小核規模についての検討では、小規模の小核 MN-1 (主核の1/5以下)、中規模の小核 MN-2 (同1/3未満) および大規模の小核 (同1/3以上) に分類して観察した。その結果、MMC では濃度依存的に MN-1 の占める割合が高く、COL では濃度依存性はみられなかった。

O-6

各種靈長類の末梢血リンパ球のフッ化ナトリウム感受性について

○岸 邦和¹、関沢浩一¹、石田貴文²、鈴木樹理³ (¹杏林大保健、²東大理、³京大靈長研)

むし歯予防のために用いられているフッ化ナトリウム (NaF) は、ヒト由来の細胞には染色体異常を誘発するがチャイニーズハムスター由来の細胞には異常を誘発せず、その作用に種間差が認められる。昨年演者らは、数種の靈長類から樹立した細胞株を用いて NaF に対する染色体感受性の種間差を検討し、ヒトに近縁な靈長類の細胞はヒト細胞と同様に染色体異常が誘発される一方、げっ歯類に近い靈長類の細胞は異常が誘発されないことを明らかにして、この種間差が系統発生学的な背景によることを示唆した。

本年は、細胞株で観察された感受性の種間差が普遍的に認められるか否かを検討するため、各種靈長類の培養末梢血リンパ球の NaF 感受性をしらべている。検討を予定している靈長類は：類人猿ではチンパンジー、テナガザル、旧世界猿ではニホンザル、ヒヒ、ミドリザル、新世界猿ではマーモセット、リスザル、原猿ではガラゴおよびキツネザルである。

末梢血リンパ球を PHA and/or Con A で刺激し、標本作成前の 24 時間を 1 ~ 6 mM の NaF で処理して染色分体型異常を観察し、異常頻度を種間および同種の細胞株と比較しているので結果を報告する。

O-7

プロテアーゼ誘発試験による突然変異制御血清因子の検索

○鈴木信夫¹、杉田克生²（千葉大医、¹二生化、²小児科）

近年、ヒトインターフェロン（ α 、 β 、 γ ）はDNA修復増大作用や、誘導突然変異抑制作用のあることが知られてきた。インターフェロンはリンホカイン／サイトカインの一種である。したがって、インターフェロン類似の変異調節因子がヒト血液中に存在する可能性がある。今回、そのような因子を検索するための方法を開発した。

まず、スクリーニング方として、プロテアーゼ誘発テストを採用した。インターフェロン処理に引き続き変異原因子で処理したヒト細胞では、プラスミノゲンアクチベーター様プロテアーゼの活性誘発が見られる。既に、このプロテアーゼの産生変異株を樹立するなど独自の調査から、適度な活性誘発レベルが変異抑制に必要との示唆を得ている。そこで、このプロテアーゼの誘発促進因子を検索することとした。休養充分な健康人の抹消血より、フィコール重層法を用い、リンパ球系細胞を得た。リンパ球系細胞はMNG処理のみでは誘発は見られないが、インターフェロンや高頻度発癌疾患患者血清で前処理すると、活性誘発が見られた。特に Tuberous sclerosis 患者由来血清では、顕著に高い誘発レベルが観察された。この異常誘発を引き起こす血清因子による形質突然変異の発現調節効果について報告する。

O-8

HPRT欠損突然変異細胞の新しい検出法の開発

○平井裕子、楠 洋一郎、秋山實利
(放影研・免疫)

環境変異原物質の顕著な影響の一つとして癌死亡率の増加があげられる。発癌のメカニズムは不明であるが、環境変異原物質による遺伝子の損傷（体細胞突然変異）が重要な原因の一つと考えられている。体細胞突然変異の検出法として我々は、末梢血単核球や赤血球の表面抗原を指標とし、フローサイトメトリー(FCM)で解析する方法と単核球中のHPRTを欠損している細胞をIL2と6-チオグアニン(TG)を用いてクローニングする方法を用いている。しかし、HPRTは種々の細胞に含まれているにもかかわらず、クローニングの困難な赤血球や好中球での測定は出来ない。今回、新しい検出法としてモノクローナル抗体(MoAb)の作成を行い、FCMによる検出を検討した。

[方法] HPRTの217個のアミノ酸のうち、基質の一つであるPRPPの結合部分の合成ペプチド(Asn¹²⁸-Met¹⁴²)にチログロブリンを結合させ抗原とした。[結果] 作成されたMoAbのうちHP-1について以下の結果を得た。(1)ホルマリン固定したBリンパ球を蛍光抗体法で染色すると正常リンパ球は染色されたが、TGリンパ球は染まらなかった。(2)Lesch-Nyhan 症候群の男児の赤血球と単核球は染まらなかった。(3)赤血球をグリコフォリンA(MN)抗体とHP-1で2重染色しFCMで解析を行い、HPRT突然変異細胞として検出される画分をソーティングすると95%以上がMN抗体にのみ染まっていた。

放射線被爆者に応用し、実用性を検討した。

O-9

omeprazole と loxitidine の
in vivo DNA一本鎖切断作用

○降旗千恵、松島泰次郎（東大 医科研、
癌生物）

[目的] ラット胃底腺部にカルシノイドを誘発する胃潰瘍治療薬 omeprazole と loxitidine の遺伝子毒性を、ラット胃粘膜でDNA一本鎖切断を指標として調べた。

[方法] 7週齢 F344 雄ラットに omeprazole を蒸留水に懸濁して胃内投与した。loxitidine は蒸留水または 0.5% カルボキシメチルセルロース液 (pH 7) に溶解して胃内投与した。陰性対照には溶媒を投与した。陽性対照には 4NQO を蒸留水に懸濁して体重 1kg 当り 20~30 mg を同様に投与した。2 時間後に胃幽門腺部粘膜を取りだし、アルカリ溶出法で DNA 一本鎖切断を調べた。

[結果] omeprazole を体重 1kg 当り 100~500 mg 投与すると、胃幽門腺部粘膜で用量依存性を示して、DNA 一本鎖切断を誘導した。DNA 溶出速度定数は対照の 6 倍上昇した。loxitidine は最大耐性用量の 1kg 当り 400mg 投与でも DNA 一本鎖切断を誘導しなかった。他方、同時に調べた陽性対照の 4NQO は溶出速度定数が陰性対照の 4~8 倍上昇した。

[考察] omeprazole がラット胃幽門腺部粘膜で不定期 DNA 合成を誘導し、omeprazole に遺伝子毒性があることをすでに報告した。本研究では DNA 一本鎖切断を指標として omeprazole の遺伝子毒性を確認した。作用は胃発癌物質 PNNG と同程度の強さである。loxitidine は遺伝子毒性が無いとされているが、本研究はそれらの結果と一致した。

O-10

In vitro 染色体異常試験プロトコールに関する国際協力研究の成果について

○祖父尼俊雄¹、山影康次²、山崎奈緒美¹、
松岡厚子¹、田中憲穂²、林 真¹、石館 基³

(¹国立衛試・変異遺伝、²食薬セ・秦野研・細胞生物、³オリンパス光学工業・染色体研究セ)

培養細胞を用いる染色体異常試験について、日本で行われているチャイニーズ・ハムスター肺由来の細胞 (CHL) を用いる方法と米国などで行われているチャイニーズ・ハムスター卵巣由来の細胞 (CHO) を用いる方法を比較した結果、試験結果に差異のあることがこれまでの国際協力研究で明らかになった。そのため試験結果に影響を与える要因を検討するために、さらに拡大した国際共同研究を行ったので、その結果の要約を報告する。米国からの参加者は M. Shelby, S. Galloway, E. Zeiger, B. Anderson, H. Murli, A. Thilagar, D. Putman and J. Wojciechowski で、英国からは R. Marshall である。

今回の協力研究の結果には研究機関の間でかなりのばらつきがみられたが、総合的に評価すると以下のようない傾向がみられた。1) 試験結果の差異の多くは試験プロトコールの違いに起因していた。2) 長い処理時間あるいは遅い標本作製時間が一般に染色体異常をより効果的に検出していた。3) 高濃度処理群では細胞周期の著しい遅延がみられた。4) 染色体異常をもつ細胞の出現頻度を比較すると、CHL 細胞の方が CHO 細胞よりも高い場合が多くみられた。

O-11

PhIPの染色体変異誘発性について

I. 染色体構造異常誘発性

○大塚ち乃¹、三浦邦彦¹、畠中みどり¹、
若林敬二²、長尾美奈子²、石館 基¹
(¹オリソバス染色体研、²国立がんセンター)

2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP)の、哺乳類培養細胞に対する in vitro 染色体構造異常誘発性に関しては、これまでに、CHO細胞由来の除去修復能欠損株を用いて検索を行った場合に陽性となるという結果のみが報告されている。¹⁾ 今回、我々は、PhIPが野生型のCHL細胞株に対し、ラット肝ミクロソーム画分(S9)による代謝活性化を受けた場合に限って、顕著な染色体構造異常誘発性を示す結果を得たので報告する。

【方法】 PhIPのCHL細胞における染色体構造異常誘発性の検索は、代謝活性化を行わない場合（直接法）と行う場合（代謝活性化法）のいずれも、常法に従って行った。²⁾

【結果】 モノセレータを用いた増殖抑制試験では、直接法(48h) および代謝活性化法(6h +18h) の場合いずれも、約50 μg/mlの濃度で50%増殖抑制が認められた。6.25~50 μg/mlの濃度範囲で染色体異常試験を実施したところ、PhIPは代謝活性化を受けた場合にのみ、12.5 μg/ml以上の濃度で顕著な構造異常誘発性を示した。PhIPによる倍数体細胞誘発性は観察されなかった。今後更に、代謝活性化の条件および生成代謝物について詳細な検討を行う。

【参考文献】

- Thompson, L. H., et al.: *Mutagenesis*, 2: 483-487(1987)
- Ishidate, M., Jr. (ed.): *Data Book of Chromosomal Aberration Test In Vitro*, Elsevier, Amsterdam(1988)

O-12

PhIPの染色体変異誘発性について

II. SCE誘発性

○佐藤卓朋¹、三浦邦彦¹、若林敬二²、
長尾美奈子²、石館 基¹
(¹オリソバス染色体研、²国立がんセンター)

2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine(PhIP)の哺乳類培養細胞に対する in vitro のSCE誘発性については、これまでに例え、V79細胞を用いて代謝活性化を行った場合にのみ陽性となるという報告がある。今回我々は、PhIPがCHL細胞に対して代謝活性化なしでも、直接SCE誘発性を示す結果を得たので報告する。

【方法】 SCE誘発性の検索は、代謝活性化を行わない直接法(30h処理)とS9mix(5% S9)による代謝活性化法(2~6h処理)とに分けて実施した。いずれの場合もBrdU(0.1 μg/ml)存在下で30h(約2細胞周期)培養し、air-dry法およびFPG法により標本を作製した。各濃度あたり50細胞を観察し、統計学的検定を行った。

【結果】 PhIPの処理濃度は、増殖抑制試験の結果から、1.56~50 μg/mlの範囲とした。代謝活性化法(6h-24h)では、最高濃度12.5 μg/ml処理で、SCE頻度が溶媒対照の6倍以上に増加した。

一方、直接法(30h)においてもSCE頻度は用量依存的に上昇し、6.25 μg/mlの濃度では溶媒対照に比較して統計学的に有意差が認められた(t-test, p<0.05)。50 μg/mlの濃度では、約2倍のSCEが観察された。

本剤が、直接法で染色体異常を誘発しなかった事実を考慮し、今後さらに、PhIPのSCE誘発性と代謝活性化との関連について機構論的検討を加える。

O-13

環境変異原物質(3,6-DNBP、B(a)P)による誘発腫瘍における抗BrdUモノクローナル抗体を用いた細胞動態の解析

田島 静、堀川和美、世良暢之、村上光一、
常盤 寛 (福岡県衛生公害センター)

3,6-DNBP、B(a)P投与によるラット皮下腫瘍(Malignant fibrous histiocytoma, MFH)を作製し、この腫瘍における細胞動態について検討した。3,6-DNBP、B(a)Pを0.2-1.0mg/ラットで皮下投与し、腫瘍が発生したラット10匹(3,6-DNBPによるもの6匹、B(a)Pによるもの4匹)を用いた。細胞動態の検討については BrdU 10mg/kgを腹腔内投与し、1時間後に腫瘍を摘出した。70%エタノール固定後、パラフィン包埋を行った。5 μmパラフィン切片を作製し、脱パラ後、アマシャム社製のcell proliferation kitを用い抗BrdUモノクローナル抗体を一次抗体とするABC染色を施行し、顕微鏡下で標識細胞を算出し、labelling index(LI)を求めた。3,6-DNBP誘発MFHでは、LIが1%以下のものが3匹、1-5%のものが3匹であった。B(a)P誘発MFHでは1%以下のものはなく、1-5%のものが3匹、5-10%のものが1匹であった。以上の結果から、誘発された組織が同じであっても、化学物質により細胞の増殖動態が必ずしも同じではなく、B(a)PのほうがLIがやや高くなる傾向があった。以上のことを基に、化学物質による変異原性、発ガン性、及び細胞増殖能の強さとの関係を検討した。

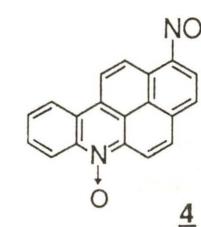
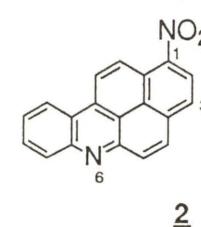
O-14

1-および3-ニトロ-6-アザベンツ[a]ピレンの合成と変異原性の化学的解析

○福原 潔¹、世良暢之²、常盤 寛²、宮田直樹¹ (¹国立衛試・有機化学、²福岡県衛生公害センター)

ベンツ[a]ピレン (B a P) のアザアナログは、B a P 同様、強力な変異原性を有する環境汚染物質として注目されている。我々は、昨年度の本大会において B a P 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)の合成、変異原性および化学的性質について報告した。今回は、1-および3-ニトロ-6-アザベンツ[a]ピレン(2、3)の合成を行い、還元特性と変異原性との相関について検討した。

1のN-オキシド体を濃硝酸でニトロ化し、1-および3-ニトロ-6-アザベンツ[a]ピレン-N-オキシド(4、5)を合成した。4、5をPBr₃により脱オキシ化し2、3に導いた。A mes 法による変異原性試験の結果、2~5はジニトロベンツ[a]ピレンと同程度の強い変異原性を示すこと、ニトロレダクターゼ欠損株でも変異原性が低下しないこと、活性化にO-アセチルトランスフェラーゼが必要なことが明らかとなった。酸化還元電位を測定した結果、2~5は母核の窒素の電子効果によりニトロ基の一電子目および二電子目の還元性が増加し還元代謝活性化が起き易いことが示された。



O-15

Pyrenequinone, Benzo[a]pyrene-quinoneのショウジョウバエDNA修復試験

古川秀之、○河井一明、北原昇吾
(名城大・薬)

【目的】 PyrenequinoneやBenzo[a]pyrene-quinoneは、大気中でPyreneやBenzo[a]-pyreneの太陽光による光酸化により生成する。これらのキノン体が *in vitro* でNADH存在下にDNA切断活性を示すことは第16回本大会(京都、1987)で報告した。そこで今回はショウジョウバエを用いて、*in vivo*でのDNA損傷性について検討したい。

【実験】 1,6-pyrenequinone、1,8-pyrene-quinone、1,6-benzo[a]pyrenequinoneそれぞれを1mg添加したDrosophila melanogaster用インスタンプ培地(North Carolina Biological Supply社製)5.2g(飼育に供する為調製されたwet mediumの重量)に除去修復および複製後修復欠損株(me¹9^amei¹1^b5)の雄と、正常なDNA修復能をもつ(me⁺)雌の3齢幼虫を入れ、25°Cで成虫になるまで飼育後、雄/雌の生存比を求めた。

【結果・考察】 雄/雌の生存比は1,6-pyrene-quinone 1.14、1,8-pyrenequinone 0.13、1,6-benzo[a]pyrenequinone 0.88 (control 1.09)となり1,8-pyrenequinone、1,6-benzo[a]pyrenequinoneは*in vivo*でDNA損傷性を示した。これらのキノン体は環境中から検出されており(J. Jäger, 1971)、またAmes test, Drosophila wing spot testで陽性(古川ら, 1988)であることから、今回の実験濃度ではDNA損傷性が認められなかった1,6-pyrene-quinoneについては、尚検討を続けたい。

O-16

ethylene dibromide の遺伝子毒性についての比較研究

○蜂谷紀之、尾留川有紀子、権太浩、
滝澤行雄(秋田大・医)

IARCによりヒトの発癌性 Group 2A に分類されている ethylene dibromide (EDB) の遺伝子毒性・変異原性について、いくつかの短期試験系による結果を比較した。なお小核試験成績の一部は MMS 分科会第6回小核試験共同研究: マウス小核試験とヒト癌原性との相関性(本大会、森田ら)の一環として実施したものである。

【方法】 大腸菌は H/r30, Hs30, 016, NG30, を用いて復帰変異頻度を測定した。アルカリ溶出試験はマウスおよびラットに EDBを腹腔内投与したのち肝DNAなどについて実施した。小核試験は最高 1500 mg/kg の EDBをマウス腹腔内に投与し、投与後 12~72 時間の間に採取した骨髄および脾臓細胞について、Giemsa 染色法で実施した。

【結果】 EDB は大腸菌において Rec⁺ 依存性の直接変異原性を示し、その復帰変異頻度は uvr および pol変異により、それぞれ野性型の約50倍と 5倍に増加した。これらの成績は EDB がアルキル化型の直接変異原であることを示唆している。EDB を投与したマウスの肝についてのアルカリ溶出法の結果はすでに発表したが、再現性などの点で必ずしも十分とは言えなかった。EDB の*in vivo* DNA損傷誘発性についてはラットにおける成績などについても検討・比較した。マウスの小核試験においては、腹腔内投与後72時間にわたって骨髄中の小核含有多染性赤血球頻度は増加せず、脾臓においても明らかな小核誘発性は検出されなかった。

O-17

水道水の変異原性とMXの定量値

○木苗直秀、杉山千歳、後藤和弥、徳本清乃、
古郡三千代(静岡県立大学・食品栄養科学)

水道原水を塩素処理した場合、多くの有機塩素化合物が生成する。特に3-chloro-4-(di chloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone (MX) は強力な変異原物質として欧米や日本の水道水から検出され、注目されている。最近、MXがラット胃粘膜に対して遺伝子毒性と細胞増殖作用を有することが明らかになつた。

そこで、全国10地点の水道水中に含まれるMXを含む有機塩素化合物による汚染状況を理化学分析値と変異原性より検討した。定期的に採取した試験水について、衛生試験法に準じて理化学分析を行つた。また、試験水中的有機物を XAD-2000樹脂に吸着させたのち、酢酸エチルで溶出した。酢酸エチル抽出画分について S. typhimurium TA100(-S 9mix) で変異原性を検定し、さらに高速液体クロマト法で分取した画分をメチル化したのち GC-MS 法で MX を定量した。4回のサンプリング実験において、水道水 1 Lあたり 44~3400 revertants の復帰変異コロニーを誘発し、MX は ND~33 ng 含まれていた。いずれの分析値もサンプリングした時期や地点により変動したが、大都市で高値を示す傾向がみられた。また、理化学分析値のうち、過マンガン酸カリウム消費量が変異原性と高い相関性を示した。

O-18

PHA刺激ヒト末梢血リンパ球の細胞分裂動態における加齢変化

○竹下達也、森本兼義(阪大医環境医学)

PHAにより刺激を受けたヒト末梢血リンパ球は、ヒト細胞における染色体異常や SCE 等の変異原性検出のための系として重要である。しかし、PHA 刺激後の分裂動態の年齢による変化は未だに十分には理解されていない。我々は今回ダウン症患者群(DS群)と対照群について、0-9, 10-19, 20-29, 40-49歳の4つの年齢群を対象として、PHA 刺激後の分裂動態に与える加齢の影響を詳細に検討した。DS群、対照群ともに、mitotic index (MI) および proliferation index (PI) のどちらも、0-9歳から 20-29歳にかけて年齢とともに有意な減少がみられたが、20-29歳と 40-49歳とではほとんど差がみられなかった。0-9歳から 20-29歳にかけての PHA 反応性の低下は、半対数曲線の直線回帰分析の結果、1細胞周期の延長ではなく、PHA 刺激後の分裂開始の遅延によるものと考えられた。また DS群と対照群の PHA 反応性は、PIに関してはいずれの年齢群においても有意な差は認められなかった。また MIに関しては、DS群が 10-19歳では低く、40-49歳では逆に高く、一定の傾向を認めなかった。同時に行なった X 線感受性の検討では、0-9, 20-29, 40-49歳のいずれの年齢群においても、DS群が対照群にくらべて有意に高い感受性を示したが、加齢とともに感受性の比(DS群/対照群)は多少減少する傾向がみられた。

O-19

ヒト胆汁中の突然変異原性の検討による胆道がんの成因研究

○真野裕¹、明石牧子²、早津彦哉²（¹新潟大・医、²岡山大・薬）

胆道がん死亡は、47都道府県中、新潟県が男女とも第一位である。また、新潟県内では下越地方（新潟平野部）に多く、上越地方（富山県寄りの地域）に少ないことが知られている。我々は胆道がんの成因に関する一連の研究の一つとして、Ames testを用いて、胆汁中の突然変異原性の検討を行った。

胆汁は、胆石症、胆囊炎、胆囊がん、胆管がん等により、胆囊全摘除術を受けた患者から採取した。採取した胆汁のblue rayon抽出物について、Ames testを行った。Ames testは、TA98株を用い、S9を加えて行った。

新潟県内で採取した胆汁のうち、6試料についてのAmes testの結果は、いずれの試料にも変異原性が認められ、また、量-反応関係も見出すことができた。最も強い変異原性を示した試料では、2650 revertants/100 μl であった。しかしながら、胆汁の変異原性の強さと、疾患・年齢・性との関係は明らかになっていない。

胆汁をそのままAmes testにかけても変異原性は検出できなかった。これは胆汁中に含まれるオレイン酸などの高級脂肪酸が変異原性をマスクしたためと考えられる。

O-20

DNA 中 5-methylcytosine の deamination のPCR 法による検出

○原田善史¹、根岸和雄²、早津彦哉¹
(¹岡山大・薬、²岡山大・遺伝子)

DNA 中の 5-methylcytosine (5-MeC) は突然変異の hot spot であると考えられており、これは 5-MeC の deamination に起因すると説明されている。今回、われわれは、M13mp2 変異株の RF-DNA を用い、任意の部位に 5-MeC を含む DNA を調製し、これを加熱処理した時に起こる微量の deamination を PCR 法で検出しようと試みた。

この DNA では、5'-AC^mCGGGA-3' (変異型) となっている部位が deamination を起こすと 5'-ACTGGGA-3' (野生型) へと変化する。この変化を primer の 3' 末端側との mismatch を利用して検出した。

その結果、この primer は野生型の DNA のみを增幅することがわかった。この增幅を利用して、多量の DNA 中の微量の 5-MeC が deamination を起こした DNA を選択的に検出できた。また、template DNA 量の増加に対応して product DNA 量も増加することがわかり、この方法を用いれば 5-MeC の deamination 量を定量することも可能であると考えられる。

O-21

Salmonella typhimurium の umuDC 様遺伝子、umuDC_{ST} と samAB の変異原に対する特異性

○能美健彦¹、渡辺雅彦¹、山田雅巳¹、羽倉昌志²、村山玲明²、祖父尼俊雄¹（¹国立衛試、²帝京大医）

umuDC は、紫外線や変異原物質による大腸菌の突然変異誘発に重要な役割をはたしている遺伝子である。昨年の本学会で我々は、Ames test に汎用されている LT2 系の *S. typhimurium* には 2 種類の umuDC 様遺伝子、umuDC_{ST} と samAB が存在することを明かにした。umuDC_{ST} が染色体上に存在するのに対し、samAB は 60MDa のクリプティック・プラスミド上に存在する。今回、これら遺伝子をマルチコピー・プラスミド上に持つ TA1535、TA1538、TA2659 の誘導株を作成し umuDC_{ST} と samAB の変異原に対する特異性を検討した。

umuDC_{ST} をプラスミド上に持つ株は、紫外線、2-nitrofluorene、aflatoxin B₁、Glu-P-1、AF-2、methyl methanesulfonate に対しては、対照株と同程度かそれよりも僅かに高い変異誘発能を示したに過ぎなかつたが、1-nitropyrene、1,8-dinitropyrene に対しては対照株よりも顕著に高い変異誘発能を示した。一方、samAB をプラスミド上に持つ株は、紫外線に対しては対照株よりも高い変異誘発能を示したが、それ以外の変異原に対しては対照株と同程度の変異誘発能を示したに過ぎなかつた。以上の結果から、umuDC_{ST} は塩基対置換型突然変異よりもフレームシフト型突然変異の誘発に関与していることが示唆された。

* 現在、エーザイ（株）

O-22

ニトロアレーン、芳香族アミンに高感度を示す変異原検出系の特性

○小田美光¹、島田 力¹、山崎浩史¹、渡辺雅彦²、能美健彦²（¹大阪府公衛研、²国立衛試）

我々は、昨年の本学会でニトロ還元酵素（NR）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の検索に有用であることを報告した。今回は、さらに高感度な検出系を開発する目的で、アセチル転移酵素（o-AT）遺伝子及び NR と o-AT 両遺伝子を umuDC 様遺伝子を導入してそれぞれ新しい NM2009 株と NM3009 株を作製し、これらの株と親株、NR 高産生株 NM1011、NR 欠損株及び o-AT 欠損株を用いて、16 種類のニトロアレーンに対する感受性を umuDC 遺伝子の誘導を指標にして比較検討した。

NM3009 株は、1-ニトロピレン (1-NP)、2-ニトロフルオレン (2-NF)、1-ニトロナフタレン (1-NN)、2-ニトロナフタレン (2-NN)、3-ニトロフルオランテン (3-NF)、4, 4'-ジニトロビフェニール (4, 4'-DNB)、m-ジニトロベンゼン (m-DNB)、1, 3-ジニトロピレン (1, 3-DNP)、3, 7-ジニトロフルオランテンに対して他の株よりも低濃度で検出でき、高い感受性を示した。NM3009 と NM1011 株で 5-ニトロアセナフテン (5-NA) と 2, 4-ジニトロトルエン (2, 4-DNT) は同じ感受性を示し、1, 6-ジニトロピレン (1, 6-DNP)、1, 8-ジニトロピレン (1, 8-DNP) は、NM3009 と NM2009 株で同じ感受性を示した。NM3009、NM1011 及び NM2009 の三株で同じ感度であったのは、ニトロフラゾンと AF-2 であった。4-NQO はいずれの株においても同じ反応を示した。また、2-NF、1-NN、2-NN、2, 4-DNT、3-NF、4, 4'-DNB、m-DNB、5-NA は NR と o-AT によって活性化される。一方、1, 3-DNP、1, 6-DNP、1, 8-DNP は o-AT によって活性化されるが、1-NP は NR により活性化されることが明らかになった。

以上の結果より、NR と o-AT の両活性を高めた試験菌株は、ニトロアレーン類の変異原物質を高感度に検出できることが示唆される。

O-23

N-エチル-N-ニトロソ尿素によるマウス8.5日胚始原生殖細胞の突然変異誘発

○濵谷徹、松田洋、石原尚吉、加藤基恵、原巧（食品薬品安全センター秦野研究所）

私達はこれまでにマウス胚の始原生殖細胞（PGC）において、N-エチル-N-ニトロソ尿素（ENU）により、高い頻度で劣性突然変異が誘発されることを報告してきた。PGCの突然変異誘発については同一の変異PGCに由来するクラスター突然変異が多発することと、時期によって感受性が異なることが認められている。

今回、8.5日胚のPGCについて、特定座位置試験を実施し、ENUの突然変異誘発における用量依存性について検討した。ENUは12.5, 25および50mg/kgの単回投与あるいは25mg/kgの2および3回投与とし、8.5日胚のC3H/Heマウスに経胎盤投与した。複数回投与の場合、投与間隔はPGCの細胞周期である16時間とした。生まれた雄は性成熟後にテスター系統のPW雌と交配した。F1の毛色および外耳の形態からPGCに突然変異が誘発されたか否かを判定した。

独立の突然変異の回数を基に算出した誘発突然変異率では、単回投与のそれぞれの用量、および25mg/kgの投与回数について、明らかな用量依存性が認められた。また、得られた突然変異体数を基に算出した誘発突然変異率は二次関数的に増加した。

マウス胚のPGCは8.5日で初めて認められ、その数は100個以下である。この時期の突然変異の誘発に関しては、その細胞数が少ないことおよび、ENU処理による細胞死に起因するクラスター突然変異の出現が大きな影響を与えるものと考えられた。

O-24

X線照射によるヒトcHPRT 遺伝子上の誘発突然変異スペクトルの解析

樋口浩文¹、○尾川博昭¹、加藤安彦¹、木村博²、加藤武司³（¹九工大・工・物質、²滋賀医大・放基、³阪大・医・放基）

X線照射による突然変異の生成は、DNA鎖の切断あるいは未知の塩基の損傷に起因することが以前から知られていた。最近、未知であったDNA塩基の損傷が、X線照射で生じるOHラジカルやHラジカルにより修飾された塩基として同定されており、X線による突然変異の研究が進展してきた。

我々は、X線照射による突然変異の生成機構の解明を目的として、ヒトcHPRT 遺伝子を持つシャトルベクター系を用いて、誘発されたHPRT-突然変異遺伝子のDNA塩基配列を解析した。cHPRT 遺伝子を染色体に組込んだマウス培養細胞VH-12にX線照射を行い、誘発されたHPRT-変異細胞クローニングからベクターDNAを回収し、DNAシーケンシングにより変異cHPRT 遺伝子の塩基配列の同定を行った。解析した29個の変異遺伝子から塩基置換7(23%)フレームシフト9(29%)、欠失11(35%)およびその他4(13%)が検出された。変異部位およびその周辺の塩基配列を詳細に検討した結果、short direct repeatあるいはinverted repeatの存在が変異生成に関与していると考えられ、その生成機構としてslippage mis-alignment modelが示唆された。

O-25

"スリッパー誤整合"による突然変異生成機構

○加藤武司¹、木村博²、尾川博昭³（¹阪大医、²滋賀医大、³九工大）

真核細胞の突然変異生成機構を研究する目的で、我々はヒトHPRT 遺伝子cDNAをもつシャトルベクター系を作製し、変異原誘発突然変異の詳細な解析を進めている。これまでに、解析のすんだ自然誘発、Trp-P2およびX線誘発突然変異の変異塩基配列に共通した配列構造を示す多数の突然変異が存在することを見い出した。上記3つの変異原による誘発変異は、いずれも約1/2が塩基置換変異、残りの約1/2は、フレームシフトと欠失であった。いずれの変異原によるフレームシフトと欠失変異でも半数以上に共通した配列が存在する。共通した配列構造は、i) 変異した配列の両端に短い繰り返し配列が存在する、ii) 短い繰り返し配列の一つが変異配列では失われている。

この特徴ある構造から、フレームシフトと欠失変異生成をうまく説明できる機構として"スリッパー誤整合"モデルを提示する。このモデルによってバクテリアからヒトの細胞にわたり、いろいろな遺伝子でこれまでに報告されている突然変異配列の生成が説明できることを示し、"スリッパー誤整合"が突然変異生成の基本的機構の一つであることを述べている。

O-26

ジアゾキノンから生成するフリーラジカルのDNA損傷作用と変異原性

○平本一幸、小島一弘、加藤哲太、菊川清見（東京薬大）

フェノールと亜硝酸が反応して生成する直接変異原物質、o-及びp-ジアゾキノン(DQ)はDNAと反応すると鎖切断を引き起こし、プリン塩基に付加体を生成する。今回、その反応機構を解明するためにDQから生成するラジカル種の関与について検討した。

一方X174RFIDNA、λDNAまたはM13ssDNAをp-DQあるいはo-DQと、pH 7、37°Cで反応させるとDNA鎖切断が生じた。またこの切断はエタノール、酸化防止剤BHA、スピントラップ剤DMPOで阻害された。プリンヌクレオシド(Guo, dGuo, dAdo)とp-DQあるいはo-DQを反応させると8位にヒドロキシフェニル基が結合した付加体を生成した。この時反応系にエタノール、BHAあるいはDMPOを添加すると、付加体の生成量は減少した。また、同種のジアゾバメタンの変異原性はBHAの存在下著しく阻害された。

一方o-DQ, p-DQの水溶液ではカテコールとp-ハイドロキノンを生成するが、BHA、エタノールを添加するとこれらの生成量は低下し、いずれもフェノールの生成量が増加する。またスピントラップ剤PBNを用いてESRによりラジカル種の検出を試みた。その結果p-DQ, o-DQ共にシグナルが観察された。水溶液中でのカップリング定数は、p-DQについて $A_N=16.0G, A_H=4.3G$, o-DQについて $A_N=16.0G, A_H=5.2G$ であった。この値はフェニルラジカルとのスピンドククトのカップリング定数に近いのでヒドロキシフェニルラジカルのスピンドククトの生成を示唆している。

以上、DNA鎖切断、塩基の修飾及び変異原性は共にDQ由来のラジカル種、ヒドロキシフェニルラジカルによって引き起こされていると考えられる。

O-27

ヒドラジン化合物によるラジカル生成およびDNA損傷

○川西正祐、山本亘二(京都大・医・公衛)

薬物代謝酵素の添加なしに変異原性を示すヒドラジン化合物について、金属による非酵素的活性化機構を検討した。

DNA損傷の解析にはヒトがん原遺伝子(c-Ha-ras1)断片を³²Pでラベルして用い、Maxam-Gilbert法を応用した。ラジカルの関与は電子スピン共鳴法で検討した。

ヒドラジンは単独ではDNA損傷を起こさないが、銅(II)の存在下でDNA損傷をもたらした。強く損傷される塩基はチミン、特に5'-GTCの配列のチミンであり、反応中に生成した過酸化水素と銅(II)から生じた活性種によるDNA損傷が示唆された。この反応では水素原子の過酸化水素生成への関与が推定された。ヒドラジンはマンガン(III)、マンガン(II)によっても活性化され、OHラジカルが生成し、DNAを損傷した。この反応はフェントン反応とは異なり、過酸化水素を経由しないOHラジカルの生成反応であることが判明した¹⁾。他のヒドラジン化合物(メチルヒドラジン²⁾、ヒドラジン³⁾)についても遷移金属による活性化の重要性が示唆された。

1) K. Yamamoto and S. Kawanishi (1991) *J. Biol. Chem.* **266**, 1501; 2) S. Kawanishi and K. Yamamoto (1991) *Biochemistry* **30**, 3069; 3) K. Yamamoto and S. Kawanishi (1991) *Biochem. Pharmacol.* **42**, 905.

O-28

PhIP-DNA付加体の構造解析

○若林敬二¹、金 善奉¹、落合雅子¹、糠谷東雄²、杉村 隆¹、長尾美奈子¹ (¹国立がんセ・研・発がん、²静岡県立大・薬)

2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]-pyridine (PhIP) は肉や魚を加熱調理することにより生成する。加熱食品中の含量は0.56~69.2 ng/gであり、他のヘテロサイクリックアミンの含量よりも多い。PhIPはサルモネラ菌及び哺乳動物細胞に対し変異原性を示すとともに、マウス及びラットに対しがん原性を示すことが証明されている。また、PhIPを投与したラットの種々の臓器にPhIP-DNA付加体が生成する。しかし、その構造は未だ解析されていない。

PhIP-DNA付加体の構造の1つとして、他のヘテロサイクリックアミン同様、グアニン塩基のC8位にPhIPのアミノ基が結合した付加体の生成が予想された。そこで、グアニン3-N-オキシドを無水酢酸処理した後に、PhIPと反応させグアニン-C8-PhIP付加体を合成した。次に、N-ヒドロキシ-PhIPと無水酢酸との反応溶液にDNAを加え、37°C、20min、pH 7.4で反応させ、この付加体の生成をHPLCで調べた。その結果、グアニン-C8-PhIPが生成することがわかった。現在、この反応に関する定量的研究及びPhIPを投与したラット臓器のDNA中のグアニン-C8-PhIPの生成の有無について検討している。

O-29

Trp-P-2 および
Trp-P-2(NHOH) の細胞内 DNA 2 本鎖
切断作用。変異原性との関係。

○角谷俊文、綿矢有佑、早津彦哉
(岡山大・薬)

[目的] Trp-P-2 とその代謝活性化体 Trp-P-2(NHOH) を、哺乳動物培養細胞に働きかせたとき起こる DNA の鎖切断を解析し、変異との関連を調べた。今回は2本鎖切断について主に調べた。

[方法] マウス FM3A 細胞に薬物を作用させた後、細胞から DNA を含む insert gel を作った。次いで、この DNA を orthogonal-field-alternation gel electrophoresis で分離し、DNA断片の有無により2本鎖切断活性を調べた。また、細胞の変異は ouabain resistance への forward mutation によって調べた。

[結果] 細胞に Trp-P-2 または Trp-P-2(NHOH) を作用させると細胞内 DNA の2本鎖切断が起こり、約 2000 kbp と 100~300 kbp の長さの DNA断片が生じた。一方、変異は Trp-P-2(NHOH) では起こるが、Trp-P-2 では全く起こらなかった。

[考察] Trp-P-2 で2本鎖切断が起こるにもかかわらず変異は起こらない事から、このDNA切断はこの変異に関係していないと考えられる。興味ある事に、この時生じたDNA断片は、5-fluorodeoxyuridine を作用させた時に生じるDNA断片とほぼ同じ長さであり、これらのDNA 2本鎖切断が共通の機構で起きている事が示唆された。

O-30

金属イオンによる適応応答誘導の阻害機構(第2報)

○高橋和彦¹⁾、鈴木 任¹⁾、川添 豊¹⁾、作見邦彦²⁾、関口睦夫³⁾ (¹名市大・薬、²九大・生医研、³九大・医)

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阻害し、メチル化剤誘発突然変異を増強させることを報告してきた。適応応答誘導のモデルより、金属イオンが i) Ada 蛋白質のメチルトランスフェラーゼ (MGTase) 活性を阻害する、ii) メチル化 Ada 蛋白質のada 遺伝子転写促進活性を阻害する、のいずれかの可能性が考えられる。本研究では、その阻害機構を明らかにする目的で、in vitro 再構成系を用いたada 遺伝子の転写促進活性、並びに MGTase活性に対する影響を検討した結果を報告する。

ada 遺伝子の転写促進活性は Ada 蛋白質とメチル化DNA の存在下、ada 調節領域を含むDNA 断片からのmRNAより分析した。また、MGTase活性は、[³H]メチル化DNA を基質とし、蛋白質中に取り込まれた放射活性により測定した。

カドミウムと水銀のいずれも、Ada 蛋白質のMGTase活性を阻害しない濃度においてada 遺伝子の転写活性を著しく阻害した。これらの結果は、カドミウムと水銀による適応応答誘導の阻害がMGTase活性の阻害によるものではなく、転写レベルでのada遺伝子発現の阻害によることを示しており、今まで報告してきた大腸菌で得られた結果と一致するものである。

O-31

ヒドロキサム酸の変異原性と代謝活性化機構

○磯部正和、植木一郎、高畠英伍
(摂南大・薬)

【目的】強い変異原性を示すヒドロキサム酸類 ($R-CO-NH-OH$) は菌体内で代謝活性化されて変異原性を発現すると考えられている。その変異原性活性本態は、O-アセチル化および Lossen 転位によって生成するイソシアン酸誘導体であると想定されているが、この説には多くの疑問点が残されている。

本研究ではヒドロキサム酸類の活性化機序を明らかにする目的で、菌体内でのアシル化および Lossen 転位の役割について検討した。

【方法】変異原性試験には *S. typhimurium* TA98株菌を使用した。被検物質と菌培養液を一定時間プレインキュベーションし、次にメンブランフィルターで濾過して菌体を集め、常法に従い His^+ コロニーを測定した。

【結果・考察】Pentachlorophenol 等のアンカッラーは 2-naphthohydroxamic acid (NHA) の変異原性を強く抑制したが、NHA O-acetate (NHAOAc) の変異原性に対する抑制作用は弱かった。また、アシル基受容体としての hydroxylamine は NHA および NHAOAc の変異原性を同程度に阻害した。変異原性試験と同一の反応系において TA98 株菌は NHA (2 ug) を 37°C, 60 min で約 7 % 代謝し、主に naphthamide に変換したが、NHAOAc の生成は認められなかった。さらに、種々の benzohydroxamic acid 誘導体を合成しその変異原性について検討した結果、Lossen 転位と変異原性との間に有意な関連性が認められないことが明らかとなった。

これらの結果は、ヒドロキサム酸類の菌体内における主な代謝活性化経路がアセチル化以外のアシル化反応であることを、また活性本態がイソシアン酸ではないことを強く示唆するものであった。

O-32

金属ポルフィリン錯体を用いたシトクロム P-450 モデルによる N-ニトロソジアルキルアミンの代謝活性化

○大河内江里子、猪俣幸代、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。これらが、テトラフェニルポルフィリン鉄錯体と tert-ブチルヒドロペルオキシドを用いたシトクロム P-450 の化学酸化モデル系によって活性化されて変異原性を発現することは、前回の本大会で報告した。今回は、さらに異なる金属ポルフィリンおよび酸化剤を用いて N-ニトロソジアルキルアミンの脱アルキル化と変異原性発現を指標として、この活性化の機構について検討した。

【実験】シトクロム P-450 モデルとして脂溶性および水溶性の金属ポルフィリン錯体 (塩化テトラフェニルポルフィリン鉄(III)、およびテトラフェニルポルフィンテトラスルホン酸マンガン(III)) と酸化剤 (tert-ブチルヒドロペルオキシド、ヨードソベンゼン、クメンヒドロペルオキシド) を用いて N-ニトロソジアルキルアミンを活性化させ、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。さらにこれらの反応系で N-ニトロソジアルキルアミンの活性体から生成するアルデヒドを定量し、 α -水酸化に基づく脱アルキル化反応を追跡した。

【結果と考察】有機溶媒中で金属ポルフィリン錯体と酸化剤によって N-ニトロソ-N-メチルブチルアミンが酸化され、突然変異原性が発現した。この変異原性は 3 種の酸化剤のいずれでも検出され、tert-ブチルヒドロペルオキシドを用いたときに最も活性が強かった。水溶液中では有機溶媒中に比べ活性は低いが、突然変異原性が発現した。これらの結果においてはアルデヒド生成量と突然変異原性とが同一の傾向であったことから、今回用いた化学モデル系においては、 α -水酸化が主な活性化経路であると分かった。

O-33

膀胱胆道合流異常モデル (膀胱胆嚢吻合) 犬胆汁の変異原性

董 菲、○木内武美、国友一史、古味信彦、片岡佳子、秋本茂、大西克成 (徳島大・医)

膀胱胆道合流異常患者では高率に胆嚢と胆管に癌が発生することはよく知られている。その原因として我々は、膀胱胆道合流異常にによって胆汁中に変異原物質が生成されるのではないかと考え、膀胱胆嚢吻合犬 (異常犬) を作成し、その変異原性を Ames 法を用いて測定した。また変異原物質が生成されるメカニズムを検討するため 1-nitropyrene (1-NP) を投与し、採取した正常犬胆汁 (1-NP-正常胆汁) に膀胱液及び各種脱抱合酵素を添加し、生じる変異原性の変化について調べた。

異常犬の作成には 18 頭の雑種成犬を用い、十二指腸バッヂ背側膀胱胆嚢吻合法による膀胱胆道合流異常モデルを作成した。また、1-NP (20 μ mol/kg) は 腹腔内に投与し、6 時間毎に胆汁を採取した。

異常犬胆汁の変異原性を測定すると 18 頭中 2 頭で TA98 株 (+) S9 において陽性を示した。また正常犬より採取した胆汁は変異原性を示さなかった。1-NP を投与して採取した異常犬と正常犬胆汁の変異原性を調べると変異原性は異常犬胆汁の方が正常犬胆汁よりも高い値を示した ($p < 0.05$)。1-NP-正常胆汁に膀胱液を添加すると変異原性が上昇し、その上に γ -glutamyltransferase, arylsulphatase などの脱抱合酵素を添加すると変異原性はさらに上昇した。膀胱胆道合流異常では細菌感染を伴う場合が多く、膀胱液および細菌由来の脱抱合酵素によって解毒抱合体の再活性化が起こっていることが示唆された。

O-34

シリアンハムスターのアセチル転移酵素遺伝子の *S. typhimurium* への導入

○安藤誠人¹、神藤康弘¹、藤田正敬¹、小沢正吾²、山添 康²、加藤隆一² (明治製薬・安全性研究所、慶應大・医・薬理)

アセチル転移酵素は、芳香族アミン類や加熱食品中に含まれるヘテロサイクリックアミン類を代謝活性化する酵素の一つである。シリアンハムスター肝には基質特異性の異なる 2 種のアセチル転移酵素 (AT-I と AT-II) が存在し、そのうち AT-I はヒドロキサム酸をアセチル供与体として利用でき、N,O-アセチル転移活性をもっている。一方、バクテリアのアセチル転移酵素には N,O-アセチル転移活性が認められない。AT-I の遺伝子を Ames 試験などに用いられるサルモネラ菌へ導入することにより、N-hydroxy-acetylaminofluorene などのヒドロキサム酸の変異原性を評価することが可能になると思われる。

我々はその第一段階として AT-I を効率よく発現するプラスミドの構築を試みた。アミノ酸翻訳領域を完全に含む AT-I 遺伝子の EcoRI フラグメントを発現ベクター pKK223-3 の EcoRI 部位にライゲーションにより挿入した。このプラスミドを *E. coli* JM109 へ導入し、その cytosol をウェスタンプロット法により調べた結果、AT-I が効率よく発現していることが確認された。

現在、我々はこの AT-I を効率よく発現するプラスミドをサルモネラ菌に導入することを計画しており、その結果についてもあわせて報告する予定である。

O-35

S. typhimurium ニトロ還元酵素、
O-アセチル転移酵素遺伝子の哺乳類培養細胞
への導入

○渡辺雅彦、松岡厚子、山田雅巳、
山崎奈緒美、林 真、能美健彦、祖父尼俊雄
(国立衛試・変異遺伝)

代謝活性化酵素の活性が、変異原性試験の感度に大きく影響する例が数多く知られている。我々は、ニトロアレーン及び芳香族アミンの代謝活性化に関与する S. typhimurium ニトロ還元酵素 (NR)、O-アセチル転移酵素 (OAT) 活性を遺伝子工学的手法を用いて増大させることにより、これら化合物に高感受性を示す Salmonella 試験菌株を樹立してきた。そこで今回、染色体異常誘発に対して高感受性を示す細胞を作る目的で、S. typhimurium NR 及び OAT 遺伝子を Chinese hamster 肺由来細胞 (CHL) へ導入した。

制限酵素を用いて切り出した、NR 及び OAT 遺伝子を、別々に哺乳類細胞発現ベクター pMAMneo に挿入し、pYG231, pYG228 を構築した。これらのプラスミドをリン酸カルシウム沈澱法で CHL 細胞へ導入し、G-418 耐性細胞のコロニーをクローニングした。pMAMneo に挿入された遺伝子が CHL 細胞中で正常に発現することを示すために、pMAMneo-CAT を pYG231, pYG228 と同様に導入した。このようにして得られた細胞は、CAT 遺伝子を発現することが確認された。NR 及び OAT 遺伝子導入細胞についても、酵素活性の測定と共に、サザン、ノーザン及びウエスタン解析、さらに細胞レベルでの性質を検討している。

示説

P-1

「Rec-lac test」の開発と評価 [II]

一大腸菌活性酸素感受性株による検討一

○倉岡 功、平津 圭一郎、小野 哲義、

山田 和正、西岡 一

(同志社大・生化研)

UVや変異原によって、大腸菌にDNA損傷(修飾、鎖切断、合成および複製の阻害など)が生ずるとSOS反応が誘導される。この反応に属するSOS遺伝子群はすべて recA-lexA 両遺伝子の制御を受けることから、変異原を検索する方法として、SOS遺伝子の発現を観察する方法(Umu testなど)が開発された。

我々は本学会第16回大会において、SOS反応において中心的役割を演じる recA と β -galactosidase(β -GAL)の構造遺伝子である lacZ との融合遺伝子を genome にもつ大腸菌 GE94 とそのDNA修復変異株3種 KY946(uvrA)、KY945(recA)、KY943(lexA)を用い、SOS誘導物質の検索系として「Rec-lac test」を開発し、その有用性を発表した。本法によりUV、4NQO、MNNG、MMS、MMCなどをはじめ、Ames法などでは検出しにくい過酸化物などに対しても極めて鋭敏に検出できる。

今回は、特に活性酸素種に対する検出感度を高めるために、P1形質導入法を用いて、活性酸素感受性株 GE94(katG)を作製し、活性酸素種用の「Rec-lac test」を開発した。その結果、さらに低濃度(0.1mM-0.5mM)のH₂O₂で明瞭な量効果関係を得た。さらに、既知の変異原や過酸化物についてもその有用性を検討した。

P-2

活性酸素Scavengerの検索と評価

一大腸菌活性酸素防御系欠損株による
「kat-sod assay」などの応用一小西 拓也、○小野 哲義、安藤 直宏、
山田 和正、西岡 一

(同志社大・生化研)

変異原や発がんイニシエーターおよびプロモーターの作用機構には活性酸素が関与していることが次第に明らかとなってきた。したがって抗変異原性や抗発がん性には活性酸素消去系すなわちscavengerが重要な役割を果たしていると考えられる。1980年、我々は唾液中のペルオキシダーゼが食に関わる各種の変異原/発がん物質を不活性化することを見出して報告したが、この機構は変異原によって生成した活性酸素の消去であったと考えられる。

活性酸素が発がん、炎症、老化などと密接に関わっていることは明らかなので、そのscavengerを環境や生体から検索し評価することは、がん予防を初め、健康維持に意義があると考えられる。

そこで我々は、各種の活性酸素防御系欠損株を作製し、これらの活性酸素感受性を野生株と比較する方法を応用してscavenger検索を行った。菌株は大腸菌GE株のDNA修復系(uvrAなど)、活性酸素消去系(kat, sodなど)の欠損株を用いた。活性酸素種としてH₂O₂、消去剤コントロールとしてペルオキシダーゼを用いた。

方法は(1)「kat-sod assay」(2)「Rec-lac test」(3)Survival testの三種である。(1),(2)は我々が開発した方法で、今学会でも報告している。これらの方法で、まず唾液のscavenger効果を再評価した。さらに母乳や食物中の成分などについても検討している。

P-3

ニトロ還元酵素活性とアセチル転移酵素活性を同時に高めた *Salmonella typhimurium* TA98, TA100 の新しい誘導株 YG1041, YG1042 の特性

○萩原雄二¹, 渡辺雅彦¹, 小田美光², 能美健彦¹, 祖父尼俊雄¹ (¹ 国立衛試・変異遺伝、² 大阪府立公衆衛生研究所)

我々はこれまでに *S. typhimurium* のニトロ還元酵素 (NR), O-アセチル転移酵素 (OAT) 遺伝子のアーニングを行い、これら遺伝子を用いて NR活性が約50倍増大したTA98, TA100の誘導株, YG1021, YG1026, ならびに OAT活性が約100倍増大した YG1024, YG1029を開発してきた。今回、更に微量のニトロアレン、芳香族アミンの変異原性検出を目的に NRとOAT両方の活性を増大させた TA98, TA100の誘導株、YG1041, YG1042を開発し、その検出感度を従来の株と比較した。

pACYC184 プラストに NR 遺伝子と OAT 遺伝子をサーカローニングしたマツシ耐性を示すプラスト *pYG233* を作製した。この組換えプラストを TA98, TA100 株へ導入し、それぞれ YG1041, YG1042とした。これらの株は NR活性のみが増大した YG1021, YG1026 とほぼ同程度の NR活性を示すとともに、OAT活性のみが増大した YG1024, YG1029 よりも更に 3~5倍高い OAT活性を示した。各菌株の感受性を比較すると YG1041, YG1042 は他の菌株では増加が認められない低濃度から復帰株数の増加が認められ、YG1041は 2-nitrofluorene, 1-nitropyrene 及び p-nitrophenetole に対し YG1021, YG1024 よりも 10倍以上高い感受性を示し、YG1042は 1-nitropyrene, 2,6-dinitrotoluene, p-nitrophenetole 及び 2-nitronaphthalene に対し YG1026, YG1029 よりも 5倍以上高い感受性を示した。

P-4

Nalidixic acid の *Salmonella typhimurium* TA102 の復帰変異とプラスミド pAQ1のコピー数に与える影響

○三島雅之、堀内一宏、井上 誠、長谷川 隆司 (中外製薬株式会社 安全性研究所)

Ames 試験に用いられる *S. typhimurium* TA102 は、ヒスチジン遺伝子上の変異部位 his(G)428 をプラスミド pAQ1 上に持つ菌株である。我々が TA98, TA100, TA102, TA1535, TA1537 を使用して Nalidixic acid (NA) の Ames 試験を実施したところ、TA102 のみに復帰変異コロニーの増加が観察された。その原因を考察するため以下の実験を行った。

his(G)428 が宿主 DNA 上にあること以外は TA102 と同じ特性を備えた TA2638 を使用して NA の Ames 試験を実施した結果、復帰変異コロニーの増加は認められなかった。そこで、TA102 の持つ pAQ1 のコピー数について検討した。NA を 0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度添加した 6 種類の液体培地で TA102 をそれぞれ一晩培養した。各培地で培養した菌液から Birnboim, Doly の方法によりプラスミド DNA を取り出してアガロースゲル上で電気泳動すると、NA の濃度が高くなるに従って pAQ1 のコピー数が増加している様子が観察された。これと同時に各菌液中における TA102 単位細胞数あたりの復帰変異率を求めたところ、やはり NA の濃度が増すに従って復帰変異率が上昇していた。これらのことから、NA の Ames 試験で TA102 の復帰変異コロニーが増加したのは pAQ1 のコピー数の増加が一因である可能性が示唆された。

P-5

S. typhimurium TA100 による D-ヒスチジンの利用

○大塚雅則、森永範子 (財団法人 化学品検査協会 日田研究所)

L-ヒスチジン要求性変異株を用いるエームス試験は、化学物質による L-ヒスチジン要求性から非要求性への復帰突然変異誘発率を指標とし、化学物質の突然変異誘発能の有無を迅速に検出する目的で広く使われている。試験系には化学物質によって誘発された突然変異を固定させる目的で、0.1 $\mu\text{mole}/\text{プレート}$ の L-ヒスチジンが添加されるが、その量は試験菌株に寒天平板培地上で数回程度の分裂を許容する範囲に限られている。

野生型のグラム陰性腸内細菌は、一般にメチオニンを除き L-アミノ酸の前駆体として D-アミノ酸を利用できないといわれている。

ところが、エームス試験で D-ヒスチジン誘導体の突然変異誘発性を調べたところ、試験菌株に許容された分裂回数を越えた過増殖に起因すると考えられる復帰変異体数の増加が観察された。

これをもとに TA100 株を用いて D-ヒスチジンの利用について検討を行った結果、L 型及び D 型ヒスチジン共存下において供試菌株は二段階の増殖曲線を示し、ある誘導期を経て D 型を利用し得るに至ると推論される事実を見出だしたので報告する。

P-6

復帰変異試験の結果におよぼすニュートリエントプロスの影響

○畠山茂樹¹, 有賀正人¹, 高坂芳男¹, 川瀬重雄¹, 遠藤治², 関良子³, 清水英佑³ (¹ 日清製粉 医薬研, ² 国立公衆衛生院, ³ 慶應大 公衆衛生)

復帰変異試験は、前培養(萩原, 第19回大会)などの実験条件や寒天(坂本, 第13回大会)あるいはリン酸水素アンモニウム(松島, 第6回 Ames Test 連絡会)などの試薬類によっても、大きく変動することが報告されている。

我々は本試験における変動要因の検討を行ってきた結果、ニュートリエントプロスのロットによって一部の菌株の反応性が大きく変動することを見い出したので報告する。

Oxoid社 4 ロット (Lot No. 009 40855, 177 4 5115, 141 44879, 337 46026) および Difco社 1 ロット (Lot No. 796643) の計 5 ロットのニュートリエントプロスと寒天のメーカーおよび塩の組成の異なる 5 種類の最少グルコース寒天平板培地を用いて TA100, TA1535, TA98, TA1537 および WP2uvrA のそれぞれの陽性対照物質に対する反応性を S 9 (-) の系でプレインキュベーション法およびプレート法によって検討した。その結果、TA1535 の ENNG 5 $\mu\text{g}/\text{plate}$ に対する反応性では最大約 20 倍に達する大きな変動が認められた。また、この変動はいずれの最少グルコース寒天平板培地においても変化することはなかった。

現在、TA1535 に陽性結果を与える他の化合物についての検討および前培養後遠心してニュートリエントプロスを交換するなどの検討も行っており、それらの結果についても合わせて報告する。

P-7

環境汚染物質のポータブルバイオ アッセイシステムの試作

○遠藤 治¹⁾、後藤純雄¹⁾、松下秀鶴²⁾
(¹⁾公衆衛生院、²⁾静岡県立大学)

急速に多様化する環境汚染物質全体の有害性評価にはバイオアッセイによるモニタリングが不可欠である。環境汚染物質のモニタリングは主に化学分析により行われているのが現状である。これは従来のバイオアッセイ法が特殊施設を必要とし、野外に持運び可能なシステムの開発が遅れているためと考えられる。本研究では野外でAmes試験が実施できるポータブルバイオアッセイシステムを試作し、バイオアッセイによるモニタリングの可能性を検討した。菌株はサルモネラTA100およびTA98を用いた。得られた知見を報告する。

①市販の簡易無菌箱を使用することにより落下細菌の90%以上排除し得ることが判ったが、Ames試験を行った場合有害紫外線の影響が大きいことが判った。②そこで、簡易無菌箱にウインドフィルム等を併用したところ有害紫外線の影響を排除し得ることが判った。③電子式温度調節器を組込んだ携帯用定温器(12V直列電池でも作動する)を作成し、一般の電源のない野外でのインキュベートを容易にした。④新鮮な菌懸濁液を使用した場合、野外データは実験室内データと同等の結果が得られた。⑤野外では菌の前培養が容易でない。そこで、予め大量凍結保存した菌懸濁液を使用直前に解凍して用いる方法を検討した。TA100ではほぼ同等の、TA98では若干低い変異原性を示した。⑥現在これらの点について、再現性も含めてさらに検討中である。

(文部省科学研究費による)

P-8

Ames 試験データの統計解析

○坂本 豊¹⁾、浜田知久馬²⁾、和田武夫²⁾(¹⁾武田
分析研究所、²⁾武田薬品 システム管理部)

Ames試験データの統計解析の試みは、欧米中心になされてきたが、統計学者としての興味から、毒性の出る用量まで含めて複雑な数学的処理を行うなど、日常の試験に直ちに応用できるものではなかった。我が国のガイドラインでは平板数は2枚以上となっており、統計学的検定法の推奨はなく、判定基準も経験的な2倍法が用いられている。一方、EC諸国のがガイドラインでは3枚以上、判定は統計学的方法となっている。そこで、我々は、まず、陰性対照データとして武田分析研究所で過去2年間に蓄積された背景データと、同一実験の50枚平板データを解析した。その結果、①Ames試験の陰性対照データは平均と分散がほぼ等しいポアソン分布であり②バラツキの原因は菌株によって異なるが、TA100株では種菌のロット間、実験日間のウエイトが大きく③2倍法の第1種の過誤(α 、陰性を陽性とする誤り)は通常5%以下で、実用上問題ないがTA100の場合は0に近く、他の菌株や検定に比べ検出力は劣ることが分かった。④また、2倍法自体には含まれない用量作用関係の検定も判定に必要である。⑤さらに、国内9機関の協力を得た50枚平板データを解析したが復帰変異コロニー数の平均値に違いはあるものの、わずかな例外を除き、いずれもポアソン分布と見做すことができ、第1種の過誤も5%以下であった。従って、適切な品質管理がなされていると考えられ、また、我が国のガイドラインの1群2枚以上、2倍法による判定という基準は十分実用性があると考えられた。

次の方々にデータの提供と解析への御協力を戴きました。感謝申し上げます。

荒木明宏(日本バイオアッセイ研究センター)、大塚雅則(化学品検査協会 日田研)、金子悦子(大塚製薬)、川口泰史(コニカ)、小木曾重文(住友化学)、島田弘康(第一製薬)、竹半伸一(大塚化学)、若田明裕(山之内製薬)、及び渡辺佳津子(残留農薬研究所)

P-9

微生物変異原性試験に用いる検定 菌の検出感度に関する共同研究

微生物変異原性試験連絡協議会
世話人代表 荒木明宏(日本バイオアッセイ研)

微生物変異原性試験は操作が比較的簡単であり再現性も得やすい事から多くの試験研究期間で実施されている。しかし、その個々の機関ごとのデータを比較すると、同一物質の試験結果に大きな差があり、この差は、試験に用いる培地や試薬類、あるいは操作に由来する因子等が関与する事がわかつた。これらの因子の他に、各研究機関ごとに保有する検定菌の感度が異なることも考えられるが、この点についての確認はまだ行われていない。そこで今回、微生物を用いる変異原性試験を実施している20機関が参加して、各機関が保有する菌株の感度について下記の調査方法により比較検討を行った。

検定菌はサルモネラ TA100とTA98を用いた。各々の菌株について同一ロットの菌を標準株として全機関に配布し、各機関で保有する菌株とともに同一日に同一条件で試験を行い、得られたデータについて解析を行った。試薬や培地、操作法は各研究機関で通常実施しているものを用いた。同一ロットのAF2を用いて4段階の指定用量につき3枚のプレートでプレート法およびプレインキュベーション法を各々2回づつ実施した。得られた全データを集計し、t検定、相関分析等の数値解析を行った。

その結果、一部の機関を除き標準株の数値は、各機関保有株の数値とほぼ近似しており、機関間の差は菌株の感度よりもむしろ試験環境に由来する事が確認された。その他に得られた解析結果についてもあわせて考察する。

P-10

染色体異常試験における最適プロ トコールの検討 I. 播種細胞数と前培養時間 等の影響

山影康次、○久保欣也、泉 淳、田中憲穂
(食薬安全センター・秦野研・細胞生物学)

染色体異常試験の結果に影響を及ぼす要因として、細胞株、播種細胞数、前培養時間、被験物質の処理時間、溶解性、S9の濃度など、多くの条件が考えられる。今回はこれらの諸条件のうち、播種細胞数と前培養時間の染色体異常誘発及び細胞毒性等に及ぼす影響について検討した。

細胞はCHL、薬剤はMitomycin C(MC)、Cyclophosphamide(CPA)などを用いた。細胞毒性の指標として、モノセレーターによる測定及びMitotic Index(MI)などを用いた。

直接法では、60mmディッシュに 2×10^4 、 7×10^4 、 2×10^5 個の細胞を播種し、1、2、3日後に種々の濃度のMCを24時間処理し標本作製した。代謝活性化法では、同じ条件で細胞を播種後1、2、3、4日後にCPAを6時間処理し、新しい培地に交換後、更に18時間培養して標本作製した。染色体分析は各群100細胞、MIは1000細胞について分析した。

その結果、いずれの方法においても播種細胞数が少ない程染色体異常の頻度が高くなる傾向がみられた。この傾向は24時間処理後の直接法の場合に顕著であった。また、前培養時間については、播種1日後の処理がいずれの細胞数の場合においても染色体異常頻度が高かった。これらの結果より、 $2 \sim 10 \times 10^4$ 個/ディッシュの細胞数を播種し、播種24時間後に処理するのが最適と考えられる。

P-11

雑種細胞A9(GM3552)-2を用いた異数性誘発物質の検出（続報）

○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)

我々は、ヒト染色体を1本含む雑種細胞A9(GM3552)-2を用いることにより、異数性誘発物質を簡便に検出できることを報告してきた。今回は、ビンクリスチシン(Vin)、ロテノン(Rot)、チューブルゾールC(TubC)、サイトカラシンB(CyB)、メトトレキセート(MTX)、その他数種の物質について本法による異数性の検出とその他の指標について比較検討した。

A9(GM3552)-2細胞を播種し、14-24時間後に種々の物質を加え24時間処理し、処理終了後、新鮮培地に交換した。24時間培養した後、6cmディッシュに $1-5 \times 10^4$ 個および200個の細胞を再播種し、5 μ g/mlの6-チオグアニンを含む培地で14-20日間選択培養した。再播種時のコロニー形成率と6-チオグアニン耐性(6TG^r)コロニーの数から、コントロールに対する相対的な6TG^rコロニーの頻度を算出した。また、処理直後の分裂指数(MI)と再播種時の倍数性細胞(POL)の出現頻度を求めた。

その結果、薬剤の作用機序の違いによって、[1] MI、POL、6TG^rコロニーとともに濃度に依存してその出現頻度が上昇する(Vin, TubC)、[2] 濃度に依存してMI、POLの頻度は上昇するが、6TG^rコロニーの誘発は認められない(Rot)、[3] POLの頻度は濃度に依存して上昇するが、MIおよび6TG^rコロニーの誘発は認められない(CyB)、[4] MI、POL、6TG^rコロニーとともに誘発されない(MTX)という4つのパターンに分けられた。

以上のことから、倍数性細胞や分裂指数の分析だけでは必ずしも異数性を検出できないことが示唆された。

P-12

マウスH-2クラスI遺伝子座位における突然変異の検出

○小田切陽一、川村堅、輕部敏昭、竹本和夫(埼玉医大・公衆衛生)

哺乳動物の体細胞突然変異を検出する系としてマウスの主要組織適合遺伝子複合体(MHC)であるH-2クラスI遺伝子座位における突然変異細胞の選別と頻度の測定方法について検討した。さらに、試験法の短期化、簡略化のためPCR(Polymerase Chain Reaction)法による遺伝子増幅の応用の可能性について検討した。

【方法】BALB/c(H-2ハプロタイプ:d)とBALB/k(H-2ハプロタイプ:k)マウスを交配し、F₁マウスを作製した。脾臓よりリンパ球を分離し、 2.5×10^6 細胞を4種類のallele specificなモノクローナル抗体(抗-K^k, K^d, D^k, D^d)で処理後、ウサギ血清補体と37°Cインキュベートした。抗体・補体処理を繰り返した後、X線処理フィーダー細胞上に限界希釈法により播種した。14-16日間MC311メディウム中で培養後、成育を認めたクローンを突然変異細胞として計数した。BALB/c, B ALB/k, F₁マウスより抽出したゲノムDNAを鋳型とし、各アレルに特異的な塩基配列部位をプライマーとしたPCR(94°C X 1.5 min → 65(60°C) X 2 min → 72°C X 3 min)を30サイクル行った。粗細胞ライセートによるPCRでは35サイクルとした。

【結果】各アレルでの自然突然変異細胞の頻度は $1.32-2.07 \times 10^{-4}$ であった。PCRにより各アレルの識別が可能であり本法が短期の体細胞突然変異検出系として利用できる可能性が示された。

P-13

マイトマイシンC投与による腸上皮細胞の染色体異常

○大山わか、浦川真実、徳光崇(ヤカルト中研)

マウスの腸上皮細胞を用いる染色体試験法の確立を目的として、染色体観察技術を開発し、投与試験を行っている。今回は、抗腫瘍剤としてヒトに使用されていると同時に、染色体試験等の陽性対照物質でもあるマイトマイシンCを3-4週齢のICR系雄マウスの腹腔内に一回投与し、空腸と結腸の染色体異常誘発の経時変化および用量依存性について検討したので報告する。

1. 経時変化: 3mg/kgの用量で投与4-24時間後まで4時間毎に、染色体標本を作製した。観察の結果、空腸、結腸共に、投与20時間後に異常頻度のピークがあり、結腸に比べ空腸では非常に高い頻度で異常が見られた。

2. 用量依存性: 0-4mg/kgの用量で、投与20時間後に標本作製を行った。空腸では用量依存性が認められ、特に、4mg/kg投与群では、細胞分裂抑制の認められた個体があつたが、非常に高い異常頻度を示した。一方、結腸では、用量に応じて異常頻度が増加したもの、細胞分裂が強く抑制され、4mg/kg投与群は、染色体が観察できず、小腸と大腸ではマイトマイシンCに対する反応が異なることが認められた。

P-14

ヒト・リンパ球を用いた染色体異常試験の検討—全血培養と分離リンパ球培養の比較—

○堀内一宏、三島雅之、井上誠、長谷川隆司(中外製薬株式会社)

ヒト由来のリンパ球を用いた染色体異常試験は環境変異原のヒトに対する影響を評価する場合に有用な情報を与えてくれる試験系であると考えられる。現在、多くの研究機関においてこの試験が実施されているが、リンパ球の培養方法をはじめとして、その試験方法は各機関により様々であり、試験条件の選択に苦慮するのが実状である。

今回、我々はリンパ球の培養方法の違いが染色体異常の誘発に影響するか否かを明らかにするために、Mitomycin Cを用い、全血培養と分離リンパ球培養における染色体異常の誘発頻度について比較検討を行ったので報告する。

全血培養とFicoll-paqueにより分離したリンパ球の培養においては、ともにリンパ球の細胞数をプレート当たり 1×10^6 cellsに調製し、RPMI1640(20%ウシ胎仔血清)中で48時間前培養した。その後、Mitomycin C 0.1, 0.2 μ g/mlを24時間処理し、染色体標本を作製して染色体異常誘発頻度を調べた。

その結果、Mitomycin Cにおける染色体異常誘発頻度はいずれの濃度でも全血培養に比べ分離リンパ球培養のほうが高値を示し、全血培養と分離リンパ球培養の間に差が認められた。したがって、染色体異常誘発頻度がリンパ球の培養方法によって影響される可能性があることが示唆された。染色体異常誘発頻度に差を生じた要因について現在検討中である。

P-15

無血清培地を用いた染色体異常試験の検討
—染色体異常誘発に及ぼす血清の影響—

梶原美次, ○小椋正造, 吉田奈保子, 安心院祥三 (化学品検査協会・日田研究所)

10%新生仔牛血清加MEM培地 (10%NCS/MEM培地) と同程度の増殖性を示す無血清培地 (GIT/DMEM培地にEGF、トランスフェリン、インシュリン、卵黄LDL、ベタイン、トリヨードチロニン、ステロイドホルモン、セレニウムなどを添加) を考案し、同培地に種々の濃度で血清を添加して培養したCHL細胞にマイトイマイシンC、シクロホスファミドなどを投与して染色体異常誘発に及ぼす血清の影響を検討した。

その結果、①マイトイマイシンC (0.05 μ g/ml) 24時間処理では、無血清培地でも同培地に血清を添加 (1~5%) した培地でも10%NCS/MEM培地と染色体異常誘発率に関してほとんど差はなく、血清の影響は明らかではなかった。②S9存在下で処理したシクロホスファミド (10 μ g/ml) では、無血清培地での染色体異常誘発率が血清を添加 (1~5%) した場合や10%NCS/MEM培地における場合と比較し、約2倍ほど高い値を示した。血清による染色体異常誘発の抑制は1%の低い濃度から明らかに認められた。③無血清培地においてマイトイマイシンC、シクロホスファミドにより誘発された染色体異常の種類は、染色分体型切断及び交換がほとんどであり、10%NCS/MEM培地の場合と変わらなかった。なお、④マイトイマイシンC及びシクロホスファミドの上記処理条件下におけるCHL細胞への毒性は、無血清培地と同培地に血清を添加した培地及び10%NCS/MEM培地の間で差はみられなかった。

P-16

ガス状物質の培養細胞を用いる染色体異常試験 (第2報)

○浅倉真澄、杉山淑江、倉富美紀、井上みゆき、野口忠、松島泰次郎 (日本バイオアッセイ研究センター、変異原性試験部)

ガス状物質の染色体異常誘発性を検索するためのばく露システムの開発と、その有用性について、一昨年本学会において報告した。今回、ガス状物質の濃度調製をする時に一定濃度に制御することが難しいO₂分圧の、染色体異常誘発性に対する影響を調べた。

試験法は、角型培養びんにCHL細胞を培養し、O₂分圧を変えてガス状物質及び既知の変異原物質を処理し、染色体異常誘発性を調べた。塩化ビニルを用いて代謝活性化法を行うと、O₂分圧が高くなるほど誘発率が上昇し、ゼロではほとんど誘発しなかった。B(a)P、DMNをS9を含む培養液中に添加し、培養びん内をN₂ 100%にして6時間処理すると、開放系と比較して誘発率が低下した。S9を含む培養液の量を変化させて、B(a)PをN₂ 100%で処理したが、誘発率は変化しなかった。代謝活性化には、気相の酸素が必要と思われる。O₂分圧が低いと還元反応が進む可能性があるため、クロロニトロベンゼンを用いて同様の試験を行ったが、開放系の方が強く誘発した。一方、直接法では酸素のみを24時間処理すると、O₂分圧60%から誘発率の上昇を示すが、N₂ 100%では48時間処理でも誘発されなかった。塩化エチルを用いるとO₂分圧が高い方が強く誘発されるが、ゼロでも誘発された。

ガス状物質の変異原性を定量的に評価するには、O₂分圧を考慮することが必要である。

P-17

染色体画像解析装置による染色体異常試験の標本観察の自動化

○山本圭介、小木曾重文、原正樹、小田原恭子、加藤日路士、中塙巖、吉武彬 (住友化学、生物環境科学研)

染色体異常試験では染色体標本観察に長時間を要し、また多くの労力を要する。我々はヒト用染色体画像解析装置 (Magiscan[®]) をチャイニーズハムスター由来の培養細胞CHL/IUおよびCHO-K1に応用し、分裂中期細胞の自動検索による染色体標本観察の自動化について検討した。

画像解析による分裂細胞の認識と座標の記録を行うMain-System 1台と、オートステージにより座標を再現するSub-System 2台からなるシステムを構築した。

チャイニーズハムスター染色体用の検索パラメータの設定により、細胞の密度、染色の濃淡にほとんど影響されることなく、約90%以上の精度で分裂中期細胞を検出できた。また自動検索された細胞の染色体異常を観察し、異常を有する細胞の頻度を通常の顕微鏡で観察した場合と比較した。その結果、構造異常、倍数体および核内倍加のいずれの異常も有意な差はなかった。また倍数体、核内倍加については自動解析が可能であった。したがって染色体異常の有無によって検出される分裂中期細胞がかたよらないことが確認され、本システムによる分裂中期細胞の自動検索は、染色体異常試験の標本観察に利用できると判断した。

P-18

ミニサテライトDNAプローブを利用したヒト細胞突然変異の検出

○本間正充¹、片岡英子¹、大西清方¹、菊野秩²、井上玲¹、水沢博¹、祖父尼俊雄¹ (¹国立衛試・変異遺伝、²化学品検査協会・日田研究所)

多くの高等生物のゲノム中にはミニサテライトと呼ばれる縦列反復配列構造が多数散在している。これら反復配列は個体間においてその繰返し数が異なり、いわゆるVNTRタイプの多型性を示す。一般に多型性は減数分裂時の突然変異により生じるが、特にミニサテライトはその高い多型性より recombination hot spotとして注目されている。一方、細胞の癌化に伴い変化することも報告され、体細胞での不安定性も指摘されているが、癌化による付随的な変化とも考えられ、ミニサテライト自体の不安定性に基づくのかは定かではない。今回我々はヒト細胞株 THP-1(46,XY)のsublineに、ミニサテライトのalleleの消失を見い出したことから、この細胞株を用いて、体細胞中の spontaneousのミニサテライトの変化を検討した。

THP-1細胞を single cell isolationにより非選択的に約100個クローニングし、解析に用いた。ミニサテライトの解析には3種のmulti-locus minisatelliteプローブ (Core, Ins, Per-6) によるDNA Fingerprint法、数種類の locus-specific minisatelliteをプローブとしたサザン解析を用いた。その結果 Core-DNA Fingerprintでは 100 clone中 3 cloneにそれぞれ 1箇所ずつ insertionもしくは deletionと考えられる変異を検出した。これは locus当たりほぼ 0.1%程度の高い変異率に相当し、ミニサテライトが体細胞中でも変異を起こしやすいことが示唆された。現在、これらミニサテライトの変異に対する Mitomycin Cなどの影響を検討中である。

P-19

MNNG処理によるミニサテライトDNA変異の検出
—DNA Fingerprint法による解析

○菊野 秩¹、本間正充²、片岡英子²、大西清方²、
井上 玲²、水沢 博²、祖父尼俊雄²(¹化学品
検査協会・日田研究所、²国立衛試・変異遺伝)

多くの高等生物のゲノム中に存在する縦列反復配列・ミニサテライトはその高い多型性を有することから中立的変異を起こす不安定なDNA領域と推定されている。最近、ミニサテライトの変異性が変異誘発因子の測定系としても利用できる可能性がマウス培養細胞系で示唆された(木南ら、1991)。特に、ミニサテライトの共通配列を用いたDNA Fingerprint法は高多型性ミニサテライトローカスを同時に数十箇所検出し得るため、このようないくつかの中立的変異を効率よく検出できる系として利用できる可能性がある。

今回我々は、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細胞株 CHO-K1およびCHLを用い、アルキル化剤 MNNGによるミニサテライトの変異をDNA Fingerprint法により検出する試みを行った。

CHO-K1およびCHL細胞を各々0.25-4uM、2-8uMのMNNGで24時間処理し、6-TGでHGPRT⁻の細胞をクローニングした。ほとんど全てのミニサテライトローカスとHGPRTローカスはリンクせず独立しているため、これら変異株におけるDNA Fingerprintの変化からミニサテライトの変異率を求めることができる。現在これらクローニングの解析を行っている。

P-20

トランスジェニックマウスを用いる
in vivo 変異原検出系の開発—遺伝子突然
変異と小核誘発性の同時検出系

○鈴木 孝昌、林 真、祖父尼 俊雄、
B. Myhr*(国立衛試・変異遺伝、*Hazleton
Laboratory Washington)

遺伝子工学の進歩により、突然変異を検出するための標的遺伝子 *lacZ* を CD2F1(BALB/c × DBA/2)に組み込んだトランスジェニックマウス(MutaMouse)が開発され、比較的簡単に *in vivo* で遺伝子突然変異が検出できるようになった。今回我々は、この手法と末梢網赤血球を用いる小核試験を組み合わせることにより、同一個体において、遺伝子突然変異と小核誘発性を同時に検出する系を開発した。

【方法】細胞当たり、80コピーの *lacZ* 遺伝子が組み込まれた MutaMouse に *N*-ethyl-*N*-nitrosourea(ENU)を腹腔内投与し、24, 48, 72時間後にマウス尾部より微量採血し、AO超生体染色法により小核網赤血球の頻度を調べた。さらに一定期間後に動物を屠殺し、各種臓器(骨髄、肝臓など)よりDNAを抽出し、エパッケージング法により、目的とする *lacZ* 遺伝子を回収後、*E. coli* C (*lacZ*⁻)株へ感染させ、ブラーク法により変異頻度を解析した。

【結果】MutaMouseにおける小核誘発頻度は、一般的に小核試験で用いられるマウスと同等の感受性を持つことがわかった(ENU100mg/kg, 48hで6.6%の小核網赤血球が出現)。一方、骨髄における遺伝子突然変異頻度は、コントロールに対し、100mg/kg投与7日後に約10倍上昇した。さらに肝臓においても有意な変異頻度の上昇が認められており、現在用量反応関係、経時変化について検討中である。

P-21

Mitomycin C のトランスジェニック
マウスにおける遺伝子突然変異と小核誘発性
の比較検討

○林 真、鈴木 孝昌、祖父尼 俊雄、
B. Myhr*(国立衛試・変異遺伝、*Hazleton
Laboratory Washington)

新しく開発されたトランスジェニックマウス(MutaMouse)を用いる突然変異検出法は、*in vivo* 系であるという利点に加え、遺伝子レベルでの解析が可能であり、臓器特異性や生殖細胞での突然変異検出、老化にともなう遺伝子の変化を調べるモデルなど、多くの可能性を秘めている。今回我々は、末梢網赤血球を用いる小核試験と組み合わせることにより、より有効な *in vivo* 評価系の樹立を試み、モデル化合物として mitomycin C(MMC)を用い、その小核誘発性と遺伝子突然変異誘発性の比較を行った。

【方法】大腸菌由来の *lacZ* 遺伝子を標的として組み込んだ MutaMouse に、MMC 1.0, 2.0 mg/kg を単回および5日反復腹腔内投与を行い、末梢血を使って AO 超生体染色法により小核の誘発を調べると共に、骨髄、肝臓などの臓器より DNA を抽出して、エパッケージング法により、*lacZ* 遺伝子を回収した後、ブラーク法により変異頻度の解析を行った。

【結果】MMC 1.0, 2.0 mg/kg 単回投与による小核誘発頻度は、3.6, 5.8%(48h)であり、他系統マウスと同様の感受性を示した。*lacZ* 遺伝子の変異頻度に関しては、単回投与では骨髄、肝臓共に有意な変化は認められなかつたが、高用量の反復投与群では骨髄において、陰性対照の2~3倍の変異頻度が得られた。ENUの結果と比較すると、MMCは染色体異常誘発性は強いが、突然変異誘発性は弱い、という特性が見いだされた。

P-22

ANALYTICAL METHOD FOR
MUTATIONS IN VIVO AT THE LACZ
LOCUS IN MUTAMOUSE TISSUES

B. Myhr¹, H. Khouri¹, K. Intehar¹, L. Custer¹, and T. Suzuki²
(¹Hazleton Washington, Inc. and
²National Institute of Hygienic Sciences)

MutaMouse is a transgenic mouse (BALB/c x DBA/2) that contains 80 copies of a lambda gt10-*lacZ* transgene stably integrated in the genome. The *lacZ* sequences serve as targets for mutagenesis studies on the mice. These genes are recovered from mouse DNA by an *in vitro* process that yields clear plaques on a bacterial lawn for mutant *lacZ* genes and blue plaques for normal genes. The mutant frequency in any mouse tissue yielding 10-50 μ g DNA can be analyzed. The efficient recovery of *lacZ* genes *in vitro* will be described. Also, the effects of several mutagens on *lacZ* mutant frequency (MF) in different tissues were determined. Spontaneous MF was in the range of 10 to 30×10^{-6} . However, intraperitoneal injections of ENU, chlorambucil, procarbazine, cyclophosphamide, and acrylamide induced dose-related increases in MF in bone marrow, liver, and testes. The largest induced MF was 1016×10^{-6} in bone marrow 10 days after subchronic treatment (50 mg/kg x 5). Skin painting studies with MNNG, DMBA and acetic acid showed dose-related mutagenesis in the skin. These and other results show that MutaMouse can detect *in vivo* mutagenesis caused by chemical agents.

P-23

マウス小核試験では2回投与後末梢血を2回採取するプロトコールでまずスクリーニングするとよい：フェナセチンとナイトロジェンマスターとの結果からの提案

○東久邇真彦、中村豊郎、須藤鎮世（伊藤ハム中研）

小核試験では物質や濃度により至適標本時間が20-60時間にわたり、予備試験や3日間の標本作製などが必要である。物質や濃度を問わずに適用できるようなプロトコールを求め、表記2物質につき骨髄法および新しい末梢血法で、CD-1とMS/Aeマウスとを用い検討した。

1. 両物質とも骨髄、末梢血で小核頻度に顕著な差はなかった。2. 2回投与を行うと両物質ともに骨髄、末梢血で1回投与より高い反応が得られた。これは小核出現の2つの山が部分的に重なるためだ。3. 1回投与では両物質ともに骨髄では24時間目に、末梢血では48時間目に最高の小核頻度となった。2回投与では骨髄、末梢血とともに2回投与後24時間目に最高となった。4. 用量が増し毒性が強まると、小核のピークは2回投与後24から48時間へと遅れる傾向を示した。毒性用量や遅延型物質を考慮し、2回投与後24と48時間目にも標本を作るといい。5. 骨髄法ではそのつど動物を殺す。末梢血では同一動物から2回投与後24, 48時間目に標本が作製できる。2回の標本は理論的に、1または2回投与後24, 48, 72時間目のいずれかにあたり、小核を見逃す可能性は少ない。6. 0時間標本は陰性対照として利用でき、別個に設ける必要が無い。7. CD-1よりMS/Aeマウスのほうが小核頻度は高かった。（本研究はJEMS, MMSの共同研究の一環として行われた）

P-24

CHL細胞を用いるin vitro小核試験：in vitro染色体異常試験との比較

○松岡厚子、山崎奈緒美、鈴木孝昌、林真、祖父尼俊雄（国立衛試・変異遺伝）

種々の化学物質について発がん性あるいは遺伝毒性のスクリーニングを目的としてin vitro染色体異常試験を行ってきた。しかし、染色体異常の観察には経験と熟練を要する。そこで、in vitro小核試験が染色体異常試験の代替法となりうるかどうかを検討した。小核は細胞質に、主核に伴って小さな核として出現し、比較的容易にかつ客観的に同定することができる。

今回、作用機作の異なる以下の11種のモデル化合物-cyclophosphamide, ethylnitrosourea, MNNG, mitomycin C, 6-mercaptopurine, colcemid, vincristine, acetaminophen, benzo[a]pyrene, potassium bromate, sodium chloride-を用いてin vitro小核誘発性と染色体異常誘発性について比較した。

同時に播種し、化学物質で処理した細胞について染色体異常試験では24時間および48時間後に、小核試験では24時間、48時間および72時間後に標本を作製した。小核観察用の標本作製では、以下の点で染色体観察用の標本とは異なる。1)コルセミド処理をしない、2)EDTA入りのtrypsinを用いる、3)細胞質を残すために低張処理を室温で、短くする、4)最終的に1%酢酸を含むメタノールに細胞を懸濁する。また、小核の観察を正確にかつ迅速に行うためにアクリジンオレンジ染色を行った。

今回検討したいずれの物質も両試験で陽性となった。両指標の相関性、染色体の構造異常の種類、倍数性と小核の大きさなどについて考察を加える。

P-25

不定期DNA合成(UDS)と複製DNA合成(RDS)誘導の4型

○大沢浩一、森真輝、降旗千恵（東大医科研・癌生物）

【目的】ラット胃幽門腺部粘膜におけるUDSとRDS誘導の組み合せには化学物質によって4型があることを明らかにする。

【方法】7週齢F344雄ラットに化学物質を胃内投与する。0, 1, 2, 16時間後に胃幽門腺部粘膜を取り出し、 $[^3\text{H}]$ チミジンとともに、ヒドロキシウレア（複製DNA合成阻害剤、HU）添加あるいは無添加で培養してDNA合成を測定した。また投与80分後の用量依存性も調べた。他方ラットを同様に処置後DNA一本鎖切断をアルカリ溶出法で調べた。

【結果】t時間後のUDSとRDSとは、HUによるRDS阻害定数をkとすると、次式で表される。

$$[\text{UDS}] = \{[\text{DS}(+\text{HU})] - k[\text{DS}(-\text{HU})]\} / (1-k)$$

$$[\text{RDS}] = [\text{DS}(-\text{HU})] - [\text{UDS}]$$

腺胃発癌物質MNNGは体重1kg当たり25~100mg投与80分後に、用量依存性を示して、UDSとRDSとを誘導した。腺胃発癌物質4NQOは5~20mg投与80分後に、用量依存性を示してUDSを誘導したが、RDSは誘導しなかった。しかし16時間後にはRDSを誘導した。腺胃発癌プロモーターのNaClは0.25~1.0g投与でUDSを誘導せず、RDSのみを誘導した。肝発癌物質DMNは6~18mg投与でUDSもRDSも誘導しなかった。UDS誘導とDNA一本鎖切断誘導とは良く一致した。

【結論】ラット胃幽門腺部粘膜におけるUDSとRDS誘導の組み合せには化学物質によって4型あることが明らかになった。

P-26

肝細胞初代培養/DNA修復試験による発癌抑制物質検出の試み（I）

○杉江茂幸、吉見直己、奥村中、田中卓二、森秀樹（岐阜大・医・病理）

肝細胞初代培養/DNA修復試験は発癌物質のスクリーニング法として極めて有用であり、これまで我々はいくつかの新しい発癌物質を本法を用いて見いだしてきた。Benzyl thiocyanate(BTC)は発癌抑制物質として知られているbenzyl isothiocyanate(BITC)の異性体であり、ともに十字花科植物に含まれる物質である。最近、我々はBTCが腸管発癌等を抑制する事を発見した。今回、F344ラットを用いて1週間400ppmBTCを食餌投与した後、肝のコラゲナーゼ灌流を行い、初代培養細胞にてdiethyl nitrosoamine(DEN)および9,10-dimethyl-1,2-benzanthracene(DMBA)による不定期DNA合成能(UDS)を指標とするDNA修復試験を行い、標準食投与ラット肝でのものと比較検討した。対照ラット肝細胞ではDEN, DMBAとも明かな陽性不定期DNA合成を示した(DEN 10^{-5} M, 84.3 ± 20.6, 100%陽性率; DMBA 10^{-5} M, 53.5 ± 28.8, 100%陽性率)。同DNA合成はBTC投与ラット肝ではDENの場合、ほとんどUDSを証明し得ず、DMBAでも有意の減少を示した(10^{-5} M, 13.3 ± 13.6, 69.3%陽性率) ($p < 0.001$)。

このような成績はBTCの発癌抑制作用について重要な背景を示唆するものであり、このような試みは発癌抑制物質、特にblocking agentのスクリーニングに有用であると考えられる。

P-27

細胞間代謝協同阻害試験における発がんプロモーターの検出（第2報）代謝活性化法の検討

○岩瀬裕美子、田中智、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）

【目的】発がんプロモーターの中には、発がんイニシエーターと同様に、生体内で代謝活性化されて初めて、その作用を示す場合があるものと予想される。しかしながら、標記の実験系で肝S9mixが使用され、検討された例は極めて少ない。今回、本実験系の発がんプロモーターの検出感度向上のため、ラット肝S9mixによる代謝活性化法が有効か否かを検討した。化学物質は、Ames試験陰性のがん原性物質であるthioacetamideとその類縁の化学構造をもつthiobenzamideを用いた。両物質の代謝活性化体には、それらのS-oxide体が知られている。

【方法】チャイニーズ・ハムスターのV79細胞[6-thioguanine(6TG)感受性]およびT2-14細胞(6TG耐性)を12wellのplateにそれぞれ2~6×10⁴個および50個播き、24時間前培養したのち、ラット肝S9mixおよび6TG共存下で、化学物質を6時間処理した。さらに6TGのみを含む培養液で5日間培養し、実体顕微鏡下でマイクロコロニー数を計測した。

【結果および考察】肝S9mix共存下でのみ、thioacetamideとthiobenzamideは、いずれも有意にマイクロコロニー数を増加させた。すなわち、これらの代謝物が、細胞間コミュニケーションを阻害することが示唆された。今回の結果から、肝S9mixによる代謝活性化法は、処理時間の制約というマイナス要因があるが、発がんプロモーターの検出に必須であった。

P-28

Epidemiological study of relationship between mutagenic activity of air pollutants and female mortality of lung cancer in Taiwan

○洪清霖¹、林瑞雄²、清水英佑³
(¹台北醫學院・公衛、²台灣大醫・公衛、³慈惠醫大・公衛)

Health hazard effects of air pollution were studied during recent three decades. It was substantially noticed to the etiological concern of lung cancer. The standardized mortalities of lung cancer have been obviously increased in Taiwan year by year, up to 8 times level from 1954 to 1990, with the sex-specific ratio around 2.0. This phenomenon is considered to have relationship with urbanization. Owing to a multiple causation of the cancer, we tried to assess rather directly the genotoxic role of air pollutants on pulmonary hazard by an epidemiological design for meaning the presumptive cause-effect relationship. The sample area of urban and rural townships around the Formosa island were selected according to the high, middle and low levels of standardized mortality rates of female lung cancer in Taiwan from 1972 to 1983, to mostly preclude the confounding effect of personally smoking. A routine air sampling procedure of 24hrs operating with the high volume air sampler was carried out once a time at each township from Jan. to Apr., 1990. Filters were extracted by Hoffman's method. Then extracted tars were assayed using *S. typhimurium* TA98 with S9 mix and His^r revertants were counted. The average weights of particulate matter were ascending in the order of mortality levels of lung cancer. High His^r values were observed most likely to be detected in the main nitromethane extracts of particulate matters from an area of the heavy lung cancer calamities. This preliminary observation indicates that there is a significant relationship between the incidence of lung cancer and the grade of air pollution.

P-29

都市大気中のガス状物質の変異原性（第2報）

○神谷明男、水谷弘雄（名古屋市公害研）

（目的）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の確立が必要である。ガス状変異原性の把握の最大問題は捕集法にあると言えよう。XAD-2, ポリウレタンホーム(PE), 活性炭素繊維ろ紙をガス捕集剤として大気中のガス状変異原性について検討したので、その結果と問題点について報告する。

（方法）名古屋市公害研究所（工業地区）の屋上と名四高速道路沿いでハイボリュームサンプラーの後に各捕集剤を2段に取り付け粒子とガスを採取した。菌株はYG-1024(TA-98/pYG219)を使用し、試験は±S9mix, プレインキュベーション法により行った。

（結果）得られた結果の大要は以下の通りである。①XAD抽出物は菌株(-S9mix)にたいして致死作用が著しく、Dose-response curveが得られない。XADは大気中の殺菌作用を持つガス状物質を吸着する。+S9では関係なく、この物質はS9mixにより代謝され殺菌作用を失う。殺菌作用を持つ物質は極性の低い物質と予想される。②活性炭素繊維ろ紙はXAD-2と同じく菌毒性が強く、抽出もベンゼン-エタノール(2:1)でソックスレー抽出以外は回収率は悪い。

③PEによるガス状変異原物質を吸着し、YG-1024株を用いると、高濃度でもKillingは見られず、条件として最も優れている。捕集効率も1段で70%以上である。しかし、PE1個には溶媒洗浄後でも12000 revertants(YG-1024)前後の間接変異原物質を含有しているのが問題である。

④PEによる夏季の調査では、ガス状物質の変異比活性は全体の45~70%(+S9) 10~50%(-S9)、冬季では9~32%(+S9) 3~35%(-S9)であり夏季におけるガス状物質の変異原性は無視出来ない。2地点同時に行った調査では、高速道路の変異原性が粒子状もガス状も公害研究所のそれより高い。ガス状変異原活性の全体に対する割合は2地点に差は見られない。

⑤ガス状物質に4環以上の多環芳香族炭化水素は殆ど検出されない。3環のPhenanthrene,やFluorantheneは非常に高い。

P-30

大気浮遊粒子上におけるニトロアレーンの生成——2-ニトロフルオランテンの生成について——

山口麻実¹、久松由東（青山学院大理工学部¹、国立公衆衛生院）

大気浮遊粒子中から変異原物質である2-及び3-ニトロフルオランテンや、1-及び2-ニトロビレンが検出されるが、ディーゼルエンジン排出物中から2-ニトロフルオランテンや2-ニトロビレンは検出されていないことから、これらは大気浮遊粒子に含まれるフルオランテンやビレンが大気汚染物質である二酸化窒素(NO₂)と大気中で反応し生成するものと推察されている。我々は大気浮遊粒子に含まれるニトロアレーン系化合物の二次生成反応や変異原性について検討して来た。今回は、フルオランテンと(NO₂+SO₂)混合ガスとの反応を光照射の下で行い、2-及び3-ニトロフルオランテンの生成について検討した。

1) 変異原性試験はAmesらの方法を一部改良したプレインキュベーション法で行い、TA98菌株を用いた。光照射には高圧水銀ランプ(100W)を用い、フルオランテンをフィルター(Pallflex, H120WW)に100μg塗布した。NO₂及びSO₂濃度は各々10ppmに調製した。2) フルオランテンと(NO₂+SO₂)混合ガスとの反応生成物を分取型高速液体クロマトグラフィーで分離、分画すると最も変異原比活性の高い画分に、2-及び3-ニトロフルオランテンを含む4種のモノ異性体の生成することが、GC-MS, EIマススペクトルの測定から認められた。3) 2-及び3-ニトロフルオランテンの生成量を、GC(NPD検出器)を用いて検討した結果、2時間の光照射下で2-ニトロフルオランテンが用いたフルオランテン量に対し約10%生成するのに対し、3-ニトロフルオランテンは痕跡量しか生成しなかった。一方、光無照射下では3-ニトロフルオランテンが約14%生成し、2-ニトロフルオランテンは生成しなかった。

P-31

空気中の変異原物質への曝露要因の検討

○大久保忠利¹⁾、後藤純雄²⁾、遠藤 治²⁾、
松下秀鶴³⁾、石井忠浩¹⁾
(¹⁾東理大、²⁾公衆衛生院、³⁾静岡県立大)

【目的】環境中の癌・変異原物質への曝露要因を調査検討することは、当該物質への曝露低減対策や発生源対策上重要である。そこで本研究では、空気中の癌・変異原物質への曝露実態に関する研究の一環として、家庭内（室内及び台所）、屋外及び個人について採取された空気浮遊粒子試料の変異原性を測定し、曝露に及ぼす要因などについて検討した。

【方法】ミコ¹⁾（柴田科学 MP-15CF）を室内（主に寝室）、台所、屋外に設置すると共に協力者（夏期18名、冬期22名）にもこれを携帯させ、24時間 約1.5 l/minの吸引流量で空気浮遊粒子を採取した。採取は東京都内及び近郊の家庭で1990年の夏期及び冬期にそれぞれ3日間ずつ行った。空気浮遊粒子中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を用いた。変異原性試験は8-アツケニアニ耐性獲得性を指標とするサモネラ菌TM677株を用いる Ultramicro forward mutation法に従った。

【結果】得られた結果は次の通りである。1) 前年度の調査と同様、喫煙者の個人試料は非喫煙者のそれよりも高い変異原性を示した。また、喫煙者の室内試料も高い変異原性を示すことや、受動喫煙の影響も認められた。2) 地域差、特に都心や幹線道路附近の屋外及び室内試料に高い変異原性が認められる場合があった。3) 焼肉、焼魚やガスコンロ、ガストーブ使用などの影響もうかがえた。

P-32

ガス状物質の変異原性試験法(II)

○井出一博¹⁾、後藤純雄¹⁾、遠藤 治¹⁾、
河合昭宏¹⁾、松下秀鶴²⁾
(¹⁾国立公衆衛生院、²⁾静岡県立大学)

【目的】空気中の汚染物質は粒子状又はガス状で存在している。これらのうち粒子状物質については、変異原性試験法が比較的多く検討され、モーリング¹⁾手法の規格化に関する検討もなされている。しかし、ガス状物質の試験法については若干の手法が開発されているが未だ種々の問題が残されている。本研究では、空気中のガス状物質の変異原性試験法の開発に関する研究の一環として、Ames法に較べて短時間で結果が得られるumu²⁾テストを取り上げ、ガス状物質の変異原性を測定する方法について検討した。

【方法】菌株はサモネラTA1535/pSK1002株を用い、これをTGA培地で37°C、7時間振盪培養して試験に供した。ガス曝露(モーリング¹⁾)は直列に接続したイビンジヤー(菌培養液3~30mlを入れたもの)2本に被験ガスを30分間導入して行った。菌の膜破壊及びβ-ガラクトシダーゼ活性測定は、ONPGを基質とする通常のumu²⁾テスト法に従った。

【結果】現在までに得られた結果は次の通りである。1)水に難溶性の物質を試験する場合には、2本のイビンジヤーからのデータをもとにその減少率から変異原性を算出し得ることを認めた。2)モーリング¹⁾時の菌の増殖等を考慮すると、被験ガスを含まない空気を同時間同流量導入したコントロール用イビンジヤーが必要であることを認めた。3)プロピレンジンなどの揮発性物質について試験したところ、良好なdose-response関係が得られた。

P-33

個人曝露空気浮遊粒子試料の変異原性(III)

—東京とノースカロライナの試料の比較—

松下秀鶴¹⁾、○後藤純雄²⁾、遠藤 治²⁾、
田辺 潔²⁾、小谷野道子²⁾、高木敬彦³⁾、
石井忠浩⁴⁾、J.Lewtas⁵⁾、R.Williams⁵⁾
(¹⁾静岡県立大、²⁾公衆衛生院、³⁾麻布大
⁴⁾東理大、⁵⁾U.S.EPA健康影響研究所)

【目的】環境空気中の癌・変異原物質への個人曝露実態調査は、曝露要因やハイリスクグループを把握するために必要不可欠である。現在まで、我々は個人サンプラーを用いた若干の調査を東京を中心に行ってきましたが、今回は米国ノースカロライナの個人曝露試料を入手したのでその変異原性試験結果及びPAH分析結果を東京の結果と比較検討した。

【方法】空気浮遊粒子は、低騒音型ミコ¹⁾を各7名協力者に常時携帯させ、1~1.5 l/分で24時間ずつ、25mmφの石英纖維フィルター上に採取した。東京の試料は1989年12月に7日間、ノースカロライナの試料は1990年2~3月にかけて6~8日間にわたって採取した。空気浮遊粒子試料中の有機成分の抽出はジクロロメタンを溶媒とする超音波抽出法を用いた。被験試料の変異原性測定は、サモネラ菌TM677株による Ultramicro forward mutation法を用い、PAHの測定には、マチカラムHPLC法を用いた。

【結果】得られた主な結果は次の通りである。喫煙者の試料の変異原性およびPAH含量は、両試料共に非喫煙者の試料よりも高い値を示した。非喫煙者同士の試料を比較すると、東京の試料の方が高い変異原性やPAH濃度を与えることが認められた。ノースカロライナの試料は東京の試料に較べて検出下限以下である場合が多く認められた。

P-34

火山灰粒子によるV79培養細胞のSCE誘発について

○白石不二雄¹⁾、藤巻秀和¹⁾、宝来俊一²⁾
(¹⁾国立環境研、²⁾鹿児島県環境センター)

桜島（鹿児島県）の火山灰はここ数十年間、周辺広域に頻発に降下しており、暴露された住民の健康への影響が懸念されている。今回、火山灰粒子について培養細胞の姉妹染色分体交換（SCE）誘発を指標とした細胞遺伝毒性を検討したので報告する。

Chinese hamster 由来のV79細胞は増殖・分裂しながら数ミクロンの固形粒子を細胞内に取り込む貪食性を示すことが確認されたことより、V79細胞を用いた大気浮遊粒子の毒性検索システムを開発した（第32回大気汚染学会）。火山灰粒子は降下後、速やかに採取された採取日の異なる3サンプル（VA-1、VA-2、VA-3）について、ステンレスメッシュでふるい、粒子の98%以上が10μmφ以下になるように調製して実験に供した。また、ボールミルで破碎したクリソタイル（Chryso）を陽性対照とした。粒子はDMSOに浮遊させ、超音波で30分間処理した後、DulbeccoのPBSでDMSO濃度が5%になるように調製し、適宜、希釀した試料を培養液に1/10量づつ添加して、暴露した（24時間培養）。Chrysoは、10~40μg/mlの暴露で濃度依存の増殖抑制作用を示し、40μg/mlでSCEの有意な誘発がみられた。火山灰粒子は3サンプルとも200~500μg/mlで濃度依存の増殖抑制作用を示し、400μg/mlあるいは500μg/mlでSCEの有意な誘発がみられた。しかしながら、その作用は微弱であり、SCE誘発能は強いものとは言えないことが示唆された。

P-35

ニトロソアミンの変異原性に対する野菜の防御作用

○江幡淳子¹、豊原真佐子¹、北原昇吾²、石原希世²、河井一明²、古川秀之²（¹阪市大生活科学、²名城大薬学）

野菜はニトロソジメチルアミン（NDMA）に対して強い変異原抑制作用を示し、疫学研究は野菜の摂取量とあらゆる部位の発癌との間に逆相関関係のあることを明らかにした。しかしながら、野菜に硝酸塩が多いことは、これが胃内におけるNDMA形成の原因物質となるのではないかと疑問視されている。

本研究は野菜に対するこの疑問に解答を得ることを目的とし、以下の実験結果を得た。
1) NDMA (2.5mg, +S-9mix)の暗所における *Salmonella typhimurium* TA100株の変異テスト（ブラックボックス法）では、コマツナ0.1g生重量を加えることによりNDMAの変異原性は無添加の場合の10%に低下した。
2) 上と同様の変異テストにおいて亜硝酸塩 (NaNO₂ 50mg)を添加するとその変異原性は15%まで低下した。

3) ブラックボックス法によるNDMAの変異原活性はスピン捕捉剤 (DMPD)によって強く阻害されたが、NDMAの代謝活性化によって生ずるラジカルはOHラジカルであることがESRによって証明された。亜硝酸は *in vitro*で生じた活性酸素により酸化され硝酸を生成したが、その反応速度はOHラジカル > H₂O₂ > O₂⁻の順に大きかった。

4) ジメチルアミンと亜硝酸のpH2における *in vitro*の反応でNDMAが生成される際、リジンと糖の加熱生成物を加えることによりNDMAの生成は濃度に依存して抑制された。

P-36

モノ及びセスキテルペノイド配糖体のSOS反応の誘導性について

宮沢三雄¹、○中村清一²、松山芳浩¹、佐野光夫¹、亀岡 弘¹（¹近畿大理工、²大阪府立公衛研）

モノ及びセスキテルペノイド配糖体は植物中に微量成分として存在している。しかし、その生理的及び生化学的活性についてはまだ未知の部分が多く、これまでにわらびに含まれるノルセスキテルペノイド配糖体であるブタキロサイドの変異原性が報告されているのみである。¹⁾

そこで我々は今回、モノ及びセスキテルペノイド配糖体 (glucoside, galactoside, maltoside) 69種の合成を行い、umu-testにより、SOS反応誘導性（変異原性）とS9(-)ではAF-2、S9(+)ではTrp-p-1に対するSOS反応抑制性（抗変異原性）について検討した。

その結果、変異原性については、ほとんどの化合物が全く活性を認めず、わずかCarvenyl-glucoside, trans-Pinocarvenyl-galactoside他、2、3の化合物に800 μg/ml量濃度での弱い変異原性を認めたのみであった。

一方、抗変異原性については、S9(-)では Tetrahydrogeranyl-glucoside, Perillyl-galactosideに、S9(+)では Eugenyl-glucoside, Farnesyl-galactosideに800 μg/ml量濃度での弱い抑制作用を認めた。

以上の結果から、これらモノ及びセスキテルペノイド配糖体はDNA損傷を起こしにくい化合物群であることが明かとなった。

1) Hirono, I., et al., Cancer Lett., 21
239~246 (1984)

P-37

食品中に含まれる直鎖飽和脂肪酸のLiquid Rec-assay

○野中美智子（九州大学 農学部 食糧化学工学科 食糧化学教室）

Acetic acid の抗菌性作用は水素イオンによるものばかりではなく、未解離の酸分子による代謝阻害も加わったものと考えられている。そこで本研究では、食品中に含まれる直鎖飽和脂肪酸について枯草菌を用いるLiquid Rec-assay を行った。ただし、S9非存在下で、試料と菌体の反応時間を60分とした。その結果、Formic acid, Acetic acid, Propionic acid, Butyric acid, Valeric acid, Caproic acid, Heptylic acid, Caprylic acid, Pelargonic acid, Capric acid は、Rec⁺株およびRec⁻株に対して殺菌作用を示した。Pelargonic acid の最小生育阻止濃度 (MIC) 比は2⁻²となり"reverse"と判定された。その他の脂肪酸は MIC比が2~2⁵の値を示し、陽性すなわちDNA損傷活性を有すると判定された。また、低濃度領域において、Rec⁺株およびRec⁻株に対する増殖促進作用が認められた。この作用は、プレート拡散法において阻止円の外側に1~数本の菌体生育円が出現することからも確認された。

P-38

姉妹染色分体交換 (SCE) および染色体異常誘発を指標にした河川水の遺伝毒性

大江 武（京都女子大・家政）

【目的】 淀川水系河川水には、*Salmonella typhimurium* TA 1538, TA 98 などによる Ames 試験で、フレームシフト型の変異原物質の存在することが報告されている。さらに、変異原物質の汚染源として、下水処理場からの放流水が原因であるとの指摘もされている。今回、阪神地方の上水源である淀川水系河川水の遺伝毒性を、哺乳類細胞の系でのSCE および染色体異常誘発を指標にして検討した。

【実験方法】 河川水からの変異原物質の回収溶出操作は、Sakamoto and Hayatu (Bull Environ Contam Toxicol 44 521 1990)の方法に準拠して行った。即ち、Blue rayon 0.5 gを入れたネットを木製の板に取り付け川の中に吊し、24 時間後に回収した。溶出して得た試料を、代謝活性化を行わない場合と行う場合とについて CHL 細胞でのSCE および染色体異常試験に供した。【結果】 変異原物質の汚染源と指摘されている下水処理場の放流水排出箇所の上流および下流 4 地点を選び検討した。SCE は、代謝活性化を行った場合に、より強く誘発され、放流水排出箇所より下流の 2 地点で、dose-dependent な SCE 誘発能が観察された。その値は、Blue rayon 0.1 g 当り 13.76 ± 5.21, 15.08 ± 4.54 で chemical-free control 6.88 ± 1.78 と比べ有意な差を示した。一方、染色体異常誘発については、SCE と同一濃度では有意な差は得られていない。今後さらに、より高濃度での検討、採取日の違いによる差などについて検討を予定している。

P-39

高感度Amesテスト(microsuspension法)による一般環境水域の汚染調査

○玉川勝美、高畠寿太郎、相原良之、
関 敏彦 (仙台市衛生研究所)

(目的) microsuspension 法はAmesテストの高感度化法であり、微量な試料の変異原性を調べる際に有用な試験法である。我々はこの方法を室内空気汚染の評価に適用し、その有用性を確認してきたが、本報では河川水等の汚染モニタリングに使用した事例について述べる。

(方法) 仙台市内を流れる七北田川(5地点)、流入河川(1地点)、および近隣湖沼(2ヶ所)について調査を行った。調査は平成3年3月4日から5日にかけて行い、試料の採取は阪本らの方法に準じ、水中にブルーレーヨンを一昼夜懸垂する方法により行った。ブルーレーヨンを回収後、アンモニア含有メタノールで浸出し濃縮乾固した。このDMSO溶液を変異原性試験の試料液とした。変異原性試験はKadoらのmicrosuspension 法を用いた。試験菌株として、*S. typhimurium* TA98を用い、±S9mixの系で試験を行った。また、BOD、CODなどの一般的な水質汚染指標(12項目)についても調査した。

(結果) ブルーレーヨン吸着物は、±S9mixの系でのみ変異原性を示し、フレームシフト型の間接変異原の存在が示唆された。また、下流域の方が上流域よりも変異原性が強く、約59倍の差が認められた。BODはCODやT-Pと危険率1%で有意の相関性が認められたが、変異原性については、いずれの汚染指標とも相関は認められなかった。

microsuspension 法はプレインキュベーション法と比較して、河川水のブルーレーヨン吸着物では、約5倍程度(±S9mix)感度が高かった。

P-40

環境水域中の Blue rayon 吸着変異原物質について

○阪本 博、早津彦哉 (岡山大・薬)

1988年に行ったBlue rayon法による淀川水系河川水の変異原性調査により、同水域中には少なくとも4種類の多環性変異原物質が存在することを明らかにした。また、このサンプルより得られた精製物を用いたAmes試験結果より、これらの物質の変異原性は非常に強く、しかも Ω -ATase高生産株 YG1024 (+S9)で高い感受性を示すことから芳香族アミンである可能性が考えられた。1990年にも同水系について再調査を行ったところ、依然として高い変異原性を検出した。さらに得られたサンプルについてHPLCによる分離を行ったところ、1988年のサンプルと同じ保持時間に変異原物質が存在した。したがって、同水系河川水の高い変異原性の主要原因となっている物質は、ある特定の物質であることが示唆される。

また、1989年に採取したErie湖のサンプルについてYG株でのAmes試験を行ったところ、NRase高生産株 YG1021 (+S9)では高感受性を示さなかったが、 Ω -ATase高生産株 YG1024 (+S9)で高い感受性を示した。このことから Erie湖サンプル中にも芳香族アミンが存在する可能性が示唆された。

P-41

ブルーレーヨンによる変異原抽出技法の展開

○明石牧子、早津聰子、阪本博、早津彦哉 (岡山大・薬)

銅フタロシアニンスルホン酸セルロースであるブルーコットン、ブルーレーヨンは、食品、水、大気、ヒト体液などの中から多環性の変異原物質を分離濃縮するため用いられている。この抽出法をより簡便、容易にし用途を拡大することを目的に研究をした結果を報告する。今回は主として吸着剤の形状を変えたものについて検討した。すなわち、ブルーレーヨンをスponジ状にしたもの、また、細切して短糸状にしたものを作りブルーレーヨンと比較した。これらの材料はダイワボウレーヨンおよびダイワエンジニアリングから得た。ブルーレーヨンは綿状であり、試料水溶液中で膨潤する。全体を振とうすることにより、試料中の変異原との接触が促進され、吸着が起こる。これに対して、今回作成したスponジ状にしたフィルターは、試料を通過させることにより、接触がより効率よく行なわれる可能性がある。また短糸ブルーレーヨンはカラムにつめて用い、フィルターと同様の効果や、多環化合物を分別溶出するクロマトグラフィーへの応用が考えられる。

(結果) ブルースポンジをフィルターとし、Trp-P-2などの標準物質や、変異原性河川水を試料として用いて、良好な結果を得た。使用上の特徴を生かしてブルーレーヨンよりも便利に使える場合があることが示唆された。またブルーレーヨン短糸についても、MeIQxを用いて、吸着回収が良好に行なえることを確かめた。

P-42

クロロフィリン・セファロースに対する変異原物質の吸着

有元佐賀恵、○福岡澄江、糸目千穂、
早津彦哉 (岡山大・薬)

(目的) クロロフィリンに変異原性抑制作用があることは、我々を含め多くの研究者によって確かめられている。その抑制作用のメカニズムは、対象となる変異原の種類によっても異なると考えられるが、我々はクロロフィリンが多環性変異原と複合体を作ることが機構の一部であると提案してきた。今回、純度の高いクロロフィリン誘導体を用いてクロロフィリン・セファロースを作成し、変異原物質の吸着について調べた。また、クロロフィリンの中心金属の有無やその種類がこの複合体形成に与える影響を調べた。

(方法) 中心金属が Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 、及び金属を含まないクロロフィリンをセファロースに連結したものを作成した。これらのクロロフィリン・セファロースに種々の化合物の水溶液(20mM Tris-HCl buffer, pH 8)を加え、吸着量を測定し吸着率を求めた。また、1M 酢酸による溶出率を求めた。さらに解離定数を測定した。

(結果) Cu-chlorin-Sepharoseを用い、37種の化合物について検討した結果は、三環以上の化合物26種のうち吸着率50%以上のものが14種、そのうち80%以上のものが9種であった。二環以下の化合物11種のうち50%以上吸着したものはなかった。Trp-P-1、Trp-P-2、9-aminoacridineは良く吸着するが、Glu-P-1、Glu-P-2、IQは吸着し難く、青綿とは異なる親和性を示すことがわかった。ICR-170とTrp-P-2の解離定数は $5 \times 10^{-6} M$ と $2 \times 10^{-5} M$ であった。12種の化合物についてFe-chlorin-Sepharoseとno-metal-chlorin-Sepharoseを用いて実験した結果はCuの結果とほぼ同じであり、これらの化合物については、中心金属の役割は小さいものと考えられる。

P-43

1,6-及び3,6-ジニトロベンゾ(a)ピレン及び関連化合物の変異原性

○世良暢之¹、福原潔²、宮田直樹²、堀川和美¹、田島静¹、村上光一¹、常盤寛¹
(¹福岡県衛生公害センター、²国立衛試・有機化学)

1,6-及び3,6-ジニトロベンゾ(a)ピレン(diNBP)の発がん性及び関連化合物の変異原性について検討した。

diNBPの関連化合物である1-及び3-ニトロ-6-シアノベンゾ(a)ピレン(1-及び3-NCBP)、1-及び3-ニトロ-6-アザベンゾ(a)ピレン(1-及び3-NABP)、1-及び3-ニトロ-6-アザベニゾ(a)ピレン-N-オキサイド(1-及び3-NABPO)の変異原性はいずれもS9非存在下でTA98株に対してdiNBPと同程度の強力な変異原性を有し、TA98NR株で変異原性が低下せずにTA98/1,8-DNP₆株で低下することから、アセチル転位酵素によって活性化される変異原物質である。大気粒子状物質中には、1-及び3-NABPが0.09-0.11pg/m³、1-及び3-NABPOが0.03-0.07pg/m³含まれていることが明らかになった。

1,6-及び3,6-diNBPをラット皮下に接種したこと、3,6-diNBPは高濃度接種群に腫瘍の発生が認められたが、1,6-diNBPには現在(接種45週目)までのところ認められていない。

1,6-及び3,6-diNBPでは3位に置換したニトロ基が1位に比べて速やかにアミノ誘導体に代謝されることから、変異原性の強度及び発がん性の発現はニトロ基の置換位置と関係があると推測され、生物活性と構造相関について考察する。

P-44

1-nitropyrene誘導体とDNAとの反応性とその変異原性

○佐野友春、宇野由利子、彼谷邦光
(国立環境研・化学環境部)

1-nitropyrene(1-NP)は、環境変異原であり、バクテリアではニトロ基が還元され、DNAとの付加物としてN-(deoxyguanosin-8-yl)-1-aminopyrene(dG-1-AP)が主に生成することが知られている。

一方、哺乳類では、多数のDNAとの付加物を生成することが知られている。しかし、これらの構造については、dG-1-APが少量生成することが知られている他は、ほとんど明かにされておらず、これら付加物の構造を決定することは、1-NPの哺乳類における変異原性の発現メカニズムを解析する上で重要であると考えられる。

そこで、種々の1-NP誘導体とヌクレオシドとの反応を検討していたところ、ふつ素で置換された1-NP(F-NP)がデオキシアデノシン誘導体と反応することがわかった。その生成物の構造を調べたところ、ふつ素の位置にデオキシアデノシンのアミノ基で置換した化合物であった。もし、同様な付加物が生体中でも生成するなら、その変異原性に影響を与えると考えられたので、TA98とTA100株を用いて1-NP誘導体の変異原性を調べたところ、F-NPは1-NPや他の1-NP誘導体と比較して高い変異原性を示した。このことから、バクテリア中でも、F-NPとDNAとの直接的な反応が起きて突然変異に結び付いている可能性が示唆された。

P-45

Sterigmatocystin及び関連化合物の変異原性

○関島勝¹、王殿升¹、渡部秀次²、菅井久美子²、関田節子³、上野芳夫¹(¹東理大薬、²三菱油化ビーゼル、³国立衛試 生薬)

真菌*Aspergillus versicolor*からsterigmatocystin(STG)以外に新規代謝物5'-Hydroxy-averantin(5'-HA)を分離・同定したので(第111回薬学会、東京)、今回、それら関連化合物の変異原性を検討した。

STG, 5'-HA, averufin(AV)は*A. versicolor*の代謝物から分離、精製し、O-Me-STG, O-Ac-STGはSTGより合成し、AFB₁はSigmaから購入した。Ames試験は*S. typhimurium* TA98とTA100を用い、染色体異常試験はチャニースマムスター-CHL細胞を使い、常法に従いS9の存在、非存在下で行った。

Ames試験では、S9(+)の場合、TA98, TA100菌株に対してSTG, 5'-HA, AV, O-Me-STG, O-Ac-STGは全て陽性であり、STGが最大の活性を示し、S9(-)では、5'-HAとAVは0.1~100μg/plateで陰性であった。S9(+)の結果をAFB₁と比較した相対変異原活性(%)は、TA98とTA100菌株で、それぞれSTGが13.6, 38.4、O-Me-STGが8.0, 16.6、O-Ac-STGが11.8, 39.9、5'-HAが0.02, 0.03、AVが0.02, 0.04であった。染色体異常試験で、S9(+)ではSTG, 5'-HA, AVはそれぞれ0.05μg, 10μg, 50μg/mlで陽性であり、S9(-)では、STGが5.0μg/mlで陽性、5'-HAとAVは最高濃度50μg/mlでも異常を認めなかった。染色体異常の種類は、STGは主にcte, ctb, gap、AVはcte, cse, gap、5'-HAはctb, cteであった。

これらの結果は、*A. versicolor*の新規代謝物5'-HAも変異原性を有するが、その活性はSTGやAVより弱いことを示す。

P-46

エピクロルヒドリンの変異原性について

○寺田めぐみ¹、水橋福太郎¹、村田共治¹、石川莞爾¹(¹クミアイ化学工業(株)生物科学研究所)

エピクロルヒドリン(ECH)は合成グリセリン等の合成原料として用いられ、マウスに皮下注射すると局所に肉腫を生じることが知られている。ECHはAmes試験やin vitroの染色体異常試験で変異原性を示すことが知られているが、in vivo試験である小核試験については報告されていない。我々は、JEMS・MMS分科会の第6回小核試験共同研究の一環として、ECHの癌原性と変異原性の関連を明らかにする目的で、Ames試験、in vitro染色体異常試験およびマウス骨髓を用いた小核試験を実施し、若干の知見を得た。

Ames試験では、ECHはS9mixの添加および非添加のいずれの場合も陽性であったが、S9mixを添加することによってその変異原性は低下する傾向を示した。CHL細胞を用いた染色体異常試験では、直接法の24時間、48時間後観察ともに染色体異常が認められたが、代謝活性化法では最高濃度でも異常は認められなかった。小核試験はCD-1雄マウスを用い、経口単回および2回投与、腹腔内単回投与し、投与後24, 48, 72時間に小核標本を作製した。ECHはいずれの場合も小核多染性赤血球数の増加を示さず陰性であった。

ECHの発癌性がいずれも投与局所に限られていること、in vitro変異原性は代謝活性化することによって減弱または消失すること、およびin vivo小核試験で小核誘発性を示さないことから、ECHの発癌性または変異原性は生体内で代謝されることにより減弱または消失する可能性が示唆された。

P-47

クロロフェノール類のumuテストによる遺伝毒性の誘発に関する研究

○小野芳朗、宗宮 功、川口達也
(京都大学工学部衛生工学科)

クロロフェノール類は染料、農薬等の中間体として、あるいはパルプ工場の漂白工程における副産物として存在する。本研究では、クロロフェノールとその異性体に関し、umuテストで試験菌株と4時間の反応での遺伝毒性誘発を調べ、さらにその毒性と、化学物質の有する構造因子との相関を検討した。

umuテストで、+S9mix下で陽性を示したものは、2,3,4-、2,4,5-トリクロロフェノール、2,3,4,6-テトラクロロフェノール、ペソタクロロフェノールで、とくにペソタクロロフェノールには強い陽性反応が検知された。-S9mix下では、m-クロロフェノール、2,4-、2,5-、3,4-、3,5-ジクロロフェノール、2,3,4-、2,4,5-、2,4,6-トリクロロフェノール、2,3,4,6-テトラクロロフェノール、ペソタクロロフェノールに陽性が示された。

これらの遺伝毒性と、化学物質の溶性の指標として、①水への溶解度②n-オクタノール/水分配係数③酸解離定数、結合性の指標として、④塩素置換基数⑤融点⑥原子価分子結合性指数⑦分子の有効断面周囲⑧Hammettの置換基定数との相関を調べた。その結果、+S9mix系での遺伝毒性と、②および④⑤⑥⑦⑧の因子間に0.80以上の比較的高い相関係数が得られた。この事実より、クロロフェノール類の持つ脂溶性と置換塩素基数及び位置が、遺伝毒性誘発に関係することが示唆された。

P-48

種々の有機スズ化合物の遺伝毒性に関する研究

○濱崎哲郎、佐藤孝彦、永瀬久光、鬼頭英明、野杣伸英、羽賀新世 (岐阜薬大・公衆衛生)

【目的】近年、有機スズ化合物は環境汚染物質として注目されている。しかし、これらの化合物の変異原性、遺伝子損傷性等の遺伝毒性に関して得られている知見は極めて少ない。そこで環境中に存在する15種の有機スズ化合物について、遺伝子損傷性を細菌を用いてスクリーニングを行った。

【方法】*E.Coli* PQ37株を用いるSOS Chromotestを行い、 β -galactosidase値とInduction factor値の上昇によりSOS修復反応誘導の有無を判定した。また、Rec-assayは常法に従い*B.subtilis* H17, M45両菌株の生育阻止域差により遺伝子損傷性の有無を判定した。

【結果・考察】SOS chromotestにおいては、butyltin trichloride, monobutyltin oxide, dibutyltin dichlorideが陽性と判定され、このうちdibutyltin dichlorideでは0.1 μ g/tubeという低用量においてinduction factor値が4.6と高いSOS-inducer能が認められた。Rec-assayにおいてはdibutyltin dichloride, tributyltin chloride, TBT0, dimethyltin dichloride, trimethyltin chlorideがnegative control(gentamicin)に対して有意な生育阻止域差を示し、陽性と判定された。これら陽性と判定された化合物の中でtributyltin chlorideは10 μ g/diskという低用量において生育阻止域差4.2mmを示した。今回のスクリーニングにおいて陽性と判定された7種の有機スズ化合物について、今後その環境内動態を監視していく必要性があると考えられる。なお、現在*S.typhimurium* TA100株を用いIMFTestを適用した方法でスクリーニングを行っており、また遺伝子損傷性の機作につき検討を行う予定である。

P-49

白金錯体の変異原性 [II]

○宇野由利子、森田昌敏 (国立環境研)

我々は第19回本学会(平成2年)において、*cis*-Pt(NH₃)₂Cl₂, H₂[PtCl₆]. 6H₂O, K₂[PtCl₄], Pt(en)Cl₂の4種に変異原性があり、なかでも*cis*-Pt(NH₃)₂Cl₂が一番強い変異原活性を持つことを報告した。本年はさらに白金錯体の種類を増やし、サルモネラTA98とTA100の2株を用いてAmes Testを行った。

今回調べた錯体9種{*cis*-Pt(NH₃)₂Br₂, Pt(C₅H₁₂N₂)Cl₂, [Pt(NH₃)₃Cl]₂PtCl₄, *cis*-Pt(NH₃)₂(NO₂)₂, K₂[Pt(NO₂)₄], K₂[Pt(C₂O₄)₂], Pt(NH₃)₄Cl₂, *cis*-K₂[Pt(NO₂)₂Cl₂], K₂[PtBr₆]}のうち、*cis*-Pt(NH₃)₂Br₂, Pt(C₅H₁₂N₂)Cl₂, [Pt(NH₃)₃Cl]₂PtCl₄の3種に強い変異原性及び毒性のあることがわかった。なかでも*cis*-Pt(NH₃)₂Br₂は、TA98, S9(+)で68Rev./nmol, S9(-)で134Rev./nmol, TA100, S9(+)で310Rev./nmol, S9(-)で250Rev./nmolと前回の*cis*-Pt(NH₃)₂Cl₂よりも強い変異原活性を持つことがわかった。

また、強い変異原活性のみられた錯体5種{*cis*-Pt(NH₃)₂Cl₂, Pt(en)Cl₂, *cis*-Pt(NH₃)₂Br₂, Pt(C₅H₁₂N₂)Cl₂, [Pt(NH₃)₃Cl]₂PtCl₄}について溶媒影響を調べてみた。溶媒を蒸留水からDMSOに変えると、この5種とも変異原活性も毒性もかなり弱くなることがわかった。このことは、DMSO中で錯体の構造が変わったためと考えられる。

蒸留水、DMSO中での錯体の構造の違いも含め、今後、錯体の変異原活性と構造の相関関係について検討していく予定である。

P-50

金属化合物による in vitro における 8-ヒドロキシデオキシゲアノシン(8-OH-dG)の生成

○秦真奈美、杉山明男、吉川邦衛
(三菱化成総合研 第2研究部門安全性研)

【目的】活性酸素は、がん誘発の引き金になるという考えが提起されており、活性酸素が原因となるDNA損傷のうち、8-ヒドロキシデオキシゲアノシン(8-OH-dG)は、高感度かつ簡便に測定可能な指標として注目を集めている。発がんメカニズムに活性酸素がかかわっていると考えられるものには、ニッケル、クロムなどの金属化合物のほとんどは、Ames試験で陰性を示し、がん原性初期スクリーニングにおいて問題となっている。

そこで、われわれは8種の金属化合物が in vitro において 8-OH-dG を生成するか否かについて検討したので報告する。

【方法】8種の金属化合物 (FeCl₂、FeCl₃、NiCl₂、CoCl₂、CdCl₂、SnCl₂、MnCl₂、ZnCl₂) を H₂O₂ および仔牛胸腺 DNA 共存下 37°C、30 min インキュベートした。反応終了後、回収したDNAを酵素的に加水分解したのち、生成した 8-OH-dG を HPLC-ECD により定量した。

【結果】8種の金属化合物のうち、4種(FeCl₂、FeCl₃、CoCl₂、SnCl₂)で 8-OH-dG 量の有意な増加が認められた。増加の程度は FeCl₂ で最も大きく、次に FeCl₃、CoCl₂、SnCl₂ の順であった。

【考察】数種の金属化合物が H₂O₂ 存在下で DNA を損傷し、8-OH-dG を生成することを明らかにした。今後は、さらにがん原性および非がん原性の金属化合物について検討するとともに、 \cdot OH だけではなく \cdot O₂ や O_2^- を介して、種々の化合物が DNA に損傷を与えるか否かについて検討を加えていく予定である。

P-51

「kat-sod assay」の開発と評価

林 悟、小野 哲義、倉岡 功、
藤河 佳代、山田 和正、○西岡 一
(同志社大・生化研)

変異原・発がん物質・発がんプロモーターの作用機構には活性酸素が関与していることが明らかくなっている。活性酸素によって多種のDNA損傷が生じ、細胞は致死や突然変異に導かれる。従って、すでにDNA損傷のタイプや作用機構が明らかとされている既知の変異原にも、活性酸素種の影響が見逃されている可能性がある。そこで我々は変異原などに由来する活性酸素を大腸菌を使用して簡単に検出する方法として「kat-sod assay」を開発した。

大腸菌活性酸素消去系欠損株 (katEG, sodA B, および二重欠損 sodAB katEG変異株) を作製し各種変異原に対する感受性を野生株と比較し検討した。方法は、これらの菌株を寒天プレート上で streak して、適当な濃度の変異原の溶液を作用させ、生育阻害される距離を測定する。陽性コントロールとしては H_2O_2 および BrO_2^- 増産剤を用いた。変異原としては、AF-2, 4NNQO, ENNG, Trp-P-1, Trp-P-2, MMS, MNNGなどを用いた。

この結果、MNNG以外の殆どの変異原で欠損変異株は野生株に比べて高い感受性を示し、多くの変異原の作用機構に活性酸素が関与することが確認された。また、各欠損株の感受性の差から、活性酸素種の種類を推定することができる。

現在、さらに他の変異原、アルデヒド、過酸化物についても検討している。また、本法の有用性を survival curve によっても確認した。

以上の結果から、この「kat-sod assay」は既知の、または未知の化学物質に対して簡単に感度良い活性酸素種の検出法として有用である。

P-52

plasmid組換えによるstrand-break 検出法の開発 -活性酸素を中心に-

○平津 圭一郎、木村 剛、倉岡 功、
小野 哲義、山田 和正、西岡 一
(同志社大・生化研)

好気性生物は呼吸の過程で合目的に活性酸素を発生し、これを利用している。しかし、発生のバランスが崩れたり、外部から活性酸素を取り込んで過剰に存在すると、生体分子と反応して毒性を発現する。この反応が発がんや多くの疾病や老化と関連することがわかっており、特に活性酸素によるDNA損傷のメカニズムが注目されている。損傷としては塩基の脱落(AP site)や酸化的損傷、一本鎖や二本鎖の切断などと報告されているが、その多くは *in vitro* におけるものであり、生体内でこのようなDNA損傷が生じるかは定かではない。そこで今回我々は、生体内でも活性酸素によりDNA鎖の切断が生じているかを plasmid組換えにより検出する方法の開発を試みたので、その結果を報告する。

Tc^r の遺伝子の互いに異なる部位に insertion をもつ2つの plasmid を大腸菌 K-12 株 (*lex(ind⁻)*) に導入した菌 (Tc^s) を活性酸素(増産剤)で処理し、survivalに対する recombinant (Tc^r) の割合 (r/s) を調べた。活性酸素によって大腸菌内の plasmid に直接あるいは AP-site などの修復過程で間接的に DNA鎖の切断が生じると、相同部位での組換えが起こり Tc^r のコロニーとしての検出が可能と考えられる。

この検出系の有用性を H_2O_2 などを用いて検討した。 H_2O_2 で処理すると、しない場合に比べて r/s は約 50% 増加した。これは H_2O_2 処理によって、生体内でも直接あるいは間接的に DNA鎖の切断が生じることを示唆するとともに、この系が検出法として成立する可能性を示している。現在、各種の変異原についてその有用性を検討している。

P-53

たばこ煙捕集液の蒸留エチルエーテル存在下における過酸化水素の生成増強

○大屋幸子¹、山本興太郎² (¹神奈川衛生短大・病理、²東京医歯大・難治研・ウイルス)

たばこ煙捕集液 (エーテル可溶成分除去) に蒸留エーテルを重層して放置することにより、同液中に過酸化水素の生成が増強される現象を観察したので報告する。

たばこ 1 本分の煙を 3 ml の磷酸緩衝液中に捕集 (5 分間) し、直ちに蒸留エーテルで振盪しエーテル層を捨て、これを 2 回繰り返した後、再び蒸留エーテル 2 ml を重層した。過酸化水素の定量は ABTS 試薬を用いる呈色反応で行なった。

エーテルの振盪・重層をしない場合、過酸化水素の生成は 2 ~ 3 時間後をピーク (0.67 $\mu\text{g}/\text{ml}$) に消失した (Nakayama, T. et al. 1984 の結果に類似)。エーテルの振盪・重層により、過酸化水素の生成は 3 日後で初日 (0.15 $\mu\text{g}/\text{ml}$) の約 15 倍になった。L-ヒスチジンの添加は過酸化水素の消失を約 1.4 倍遅らせ、カタラーゼの添加は過酸化水素の生成を完全に阻害した。

以上のような過酸化水素の生成は、たばこ煙 (エーテル可溶成分除去) 中に、エーテルを容易に酸化する物質 (過酸化物) が存在することを示唆している。既知報告では、たばこ煙中成分 (カテコール類) の自動酸化から起因する過酸化水素の生成が示唆されている (Nakayama, T. et al. 1984)。過酸化水素を含む過酸化物は変異原性と関連があり、その作用機序の解明は重要である。本現象はこれら不安定な物質の微量を増幅して正確に定量し得る可能性を示唆する。

P-54

γ 線照射した糖、アミノ酸混合液の加熱物の変異原性

○坂本京子、森久保桂子、高島浩介、渋谷徹、栗飯原景昭、(食品薬品安全センター・秦野研究所)

糖とアミノ酸を混合して加熱処理するとメイラード反応が起こり、変異原性を有する反応生成物が生じることがある。食品の加熱調理の際にもメイラード反応に由来する変異原物質が生成することが確認されているが、照射食品も加熱調理を行えば同様の反応が起こる事から、照射食品の安全性を確認する上で、食品中のメイラード反応による変異原物質の生成量が γ 線照射によって変化が生じるか否かを検討する必要がある。そこでグルコースおよび D-リボースの水溶液に各種のアミノ酸を混合し、その照射物と非照射物を加熱して得られたメイラード反応生成物の変異原性を比較した。

D-リボースまたはグルコースの水溶液に 6 種のアミノ酸を 1 mmole/ml になるよう溶解または懸濁させ、10kGy の γ 線照射を行った。各々の試料は使用時まで -80°C で保存し、用時解凍してオートクレーブで 121°C で 1 時間加熱処理した後、サルモネラを用いて変異原性試験を行った。

2 種類の糖と 6 種のアミノ酸の組合せの内で、照射、非照射試料の間の変異コロニー数の差異が顕著なものは認められなかったことから、 γ 線照射によって変異原物質の生成量は増加しないものと考えられた。

P-55

照射小麦粉飼料給餌によるチャイニーズ・ハムスター骨髄細胞における倍数体誘発

○田中憲穂、山影康次、泉 淳（食薬安全センター・秦野研・細胞生物）

放射線を照射した小麦粉を含む飼料を、ラットやチャイニーズ・ハムスターに与えると倍数性細胞(以下倍数体)が誘発される事が報告されている。しかしながら、これらの実験結果に関する確認の報告はまだなされていない。そこで本研究では、高線量照射した小麦粉を含む飼料を照射直後に与えた場合の影響について、チャイニーズ・ハムスター骨髄細胞の倍数体分析とアクリジンオレンジ法による末梢血の小核分析により検討した。

照射線量は7.5、15、30kGyの線量を用い、小麦粉を線量群毎に小分けしてポリエチレン袋に入れ、脱気して内部の空気を窒素ガスに置換した群(N₂群)と置換しない群(air群)に分けた。両群は照射によって生成が抑制、もしくは生成される可能性のあるH₂O₂やヒドロキシラジカルなど活性酵素の影響をみる為に設けた。γ線照射(⁶⁰Co)は日本アイソトープ協会甲賀研究所の協力によりおこなった。照射小麦は飼料の他の配合物と混合し、粉末飼料として照射後8~72時間の間に給餌した。

γ線照射小麦飼料を72時間にわたって給餌したチャイニーズ・ハムスター骨髄細胞の倍数体分析では、N₂およびair群とともに非照射群に比べ、倍数体の有意な増加や線量依存的な誘発は認められなかった。また、末梢血中の小核分析においても小核の有意な増加は認められなかった。これらの結果より、照射小麦の照射直後の給餌において倍数性細胞の誘発はないものと考えられる。

P-56

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 (3)
- DNAへのソラレン結合量と変異原性 -

○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-methoxysoralen(8-MOP)の添加で大きくなることを既に報告した。今回、UVA+8-MOPの変異原性と、8-MOPのDNAなどへの結合量について調べた。

シャーレに幼虫とsucrose溶液を入れ、これに8-MOPを添加し、320~400nmのUVAを照射した。非照射群は暗所で処理した。結合量の測定は、[³H]8-MOPを同時に添加して、UVA照射あるいは非照射の幼虫からDNA、RNA、蛋白を分画し、それぞれに存在するradioactivityを測定した。変異原性の検出は、翅毛スポットテストを用い、成虫の翅毛に現われる体細胞突然変異を観察した。

各画分におけるradioactivityは下表のようになつた。DNAへの結合量は、6hr、12hr照射でそれぞれ、30.5、40.1 8-MOP residues/10⁹nucleotidesと計算された。また、変異原性はUVA照射時間に依存して観察され、UVA非照射群では観察されなかつた。この結果、RNAや蛋白にも結合しているので、DNA以外への結合も、genotoxicityに影響を与えている可能性が示唆された。

UVA	Time (hr)	Radioactivity ($\times 10^3$ dpm/g larvae)		
		DNA	RNA	Protein
+	6	2.7	21	21
+	12	3.7	23	60
-	6	0.52	6.9	2.8
-	12	0.77	7.7	1.4

P-57

N-ニトロソジアルキルアミンの、酢酸存在下、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）

「目的」既に我々は、N-ニトロアルキルアミンをリン酸緩衝液中で近紫外光照射すると、直接変異原を生成することを報告し¹、N-ニトロピペリジンの活性化体が α -ハイドロキシトロピペリジンのリン酸エチルであると同定した²。さらに活性化の系にIQが共存するとIQのアミノ基がニトロ基に変わることも見出した³。今回我々は、リン酸に代え、天然に存在する種々のカルボン酸の中性溶液中でN-ニトロアルキルアミンを近紫外光照射し、直接変異原性を調べた。

「方法」96穴マイクロタワーに、40 mM ニトロアミン、20 mM カルボン酸溶液を入れ、pHを中性に合わせて300~400 nmの近紫外光(7 μ W/mm²)を2時間照射した。照射後の溶液各150 μ lについてサルモネラ菌TA1535、-S9で、プレート法により変異原性を調べた。

「結果」環状ニトロアミン(ニトロモルホリン、ニトロピペリジン)は、酢酸、コハク酸、クエン酸の存在下、近紫外光照射により直接変異原性を示すようになった。最も活性が強く現れた「ニトロモルホリンと酢酸」の組み合わせについてさらに調べたところ、ニトロモルホリン、酢酸いずれに対してもdose-dependentであり、いずれかが存在しなければ、活性は現れなかつた。また、近紫外光を照射しなければ活性が出なかつた。照射時間は2時間付近を最大とし、長時間照射すると活性はかえって低下した。以上により、ニトロアミンとカルボン酸の近紫外光照射で、何らかの反応が起きて非酵素的な活性化が起こっているものと考えられる。

- 1) Hayatsu, H. et al. *Gann*, 75, 233-238 (1984). 2) Arimoto, S. et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 162, 1140-1146 (1989). 3) Arimoto, S. & Hayatsu, H. *Mutation Res.*, in press.

P-58

米国NTP選定化学物質によるumuテストの評価

○安永勝昭、大河内亜紀子、浅井紀子
吉川邦衛
(三菱化成総合研 第2研究部門安全性研)

【目的】umuテストはAmes試験の代替法として開発された試験であるが、がん原性の有無が確認されている同一化学物質で、両試験結果を比較した例は数少ない。今回、米国NTP選定の化学物質を用い、umuテストを実施した。

【材料と方法】インビトロ短期試験法の評価研究(Tennantら, 1987)に使用された73化学物質のうち、65化学物質を供試した。指標菌株としてSalmonella typhimurium TA1535/pSK1002株を使用し、5000 μ g/mlを最高濃度とした。

【結果】今回試験した65化学物質中のがん原性物質の陽性検出率は49% (Ames試験46%)であり、非がん原性物質の陰性検出率は88% (Ames試験88%)であった。umuテストの結果がAmes試験と異なったのは、以下の化学物質であった。

- umu (+), Ames (-), がん原性 (+)
3-chloro-2-methylpropene,
monuron,
reserpine,
○umu (-), Ames (+), がん原性 (+)
1,2-dichloropropane,
ziram,
○umu (+), Ames (-), がん原性 (-)
dimethyl terephthalate,
ethoxylated dodecyl alcohol,
sulfisoxazole,
○umu (-), Ames (+), がん原性 (-)
2-chloroethanol,
8-hydroxyquinoline,
2,6-toluenediamine,

以上の結果、米国NTP選定の65化学物質においてumuテストは、Ames試験と同程度の検出率を有するが、検出できる化学物質には多少の相違があった。今後、これら相違点について検討し、umuテストをAmes試験の代替法として確立するつもりである。

P-59

1,2-dimethylhydrazine(DMH)によるラット大腸粘膜細胞のDNA損傷
(IV) CaCl_2 および NaCl の影響

○権 太浩, 蜂谷 紀之, 滝澤 行雄
(秋田大・医・公衛)

胆汁酸によるラット大腸粘膜細胞の複製DNA合成(RDS)活性の促進効果が CaCl_2 によって抑制されることをすでに報告した。 CaCl_2 および NaCl の修飾作用についてはDMHに対しても検討したので、その結果を報告する。

【方法】被検物質を投与したF344ラットから大腸粘膜上皮組織を摘出し, *in vitro*で³H-thymidineの取込み活性などを測定して、総DNA合成(TDS), 不定期DNA合成(UDS), 複製DNA合成(RDS)を求めた。さらにその組織の粗核分画についてアルカリ溶出法によってDNA一本鎖切断(SSB)を測定した。

【結果】 CaCl_2 は胆汁酸のRDS活性を抑制したが、DMHのDNAに及ぼす作用に対してはこれとは異なる効果が認められた。一方、 NaCl はDNA合成やDNA損傷の誘発を促進した。すなわち、 $\text{NaCl} 700\text{mg/kg}$ の投与で投与後16時間にわたって、TDSが対照群の36倍以上上昇した。DMHのRDS促進作用およびUDS誘発性は NaCl により著しく上昇した。アルカリ溶出法においても NaCl 単独投与ではDNA一本鎖切断は見られなかったものの、DMHによるDNA一本鎖切断は NaCl の前投与により促進された。

P-60

³²P ポストラベル法による人白血球DNA付加体の測定

○市場正良 (佐賀医大 地域保健)

化学発癌物質は、生体内でその代謝産物がDNAと共有結合し、付加体を形成する。DNA付加体を高感度で検出する方法に、³²P ポストラベル法がある。このポストラベル法により、人の末梢血白血球中のDNA付加体を測定し、日常生活における様々な環境変異原物質暴露の状態を観察した。

健常者の末梢血10mlより抽出した白血球DNAを検体とした。測定は高感度なヌクレアーゼP1法を使用した。DNAは5-10 μg 、放射性ATPは0.74MBq(20 μCi)使用した。

一部の人から、いくつかの付加体を検出することができた。しかし、日常生活で付加体の形成に大きく関与すると思われる喫煙量の付加体濃度への影響は見られなかった。また、同一人の付加体の数、濃度の時間変化を観察するため、約1ヶ月後に再測定をした。

P-61

マウス小核試験とヒト癌原性との相関性
- 第1報 -

小核試験共同研究グループ(JEMS・MMS分科会)
世話人代表 森田 健(日本グラクソ)

小核試験は癌原物質の検索試験としての意味合いが強く、癌原性との相関性について様々な議論がなされているが、まだデータが少ないのが現状である。そこで今回は、国際癌研究機関(IARC)でグループ1(ヒト発癌物質), 2A(疑いの高いもの)および2B(疑いのあるもの)にランクされている化合物の中から、小核誘発性に関するデータが不十分なもので、かつ入手可能なものをそれぞれ14, 23および15の計52化合物を選択し、51機関がそれらの小核試験を実施した。

【方法】原則として、雄マウスを1群5匹で各検体を3用量以上、ipまたはpoで1回あるいは複数回投与し、骨髓または末梢血を用いて検討した。詳細は過去の共同研究で得られた知見を基に、各機関で適宜設定した。

【結果】今回選択した化合物はアスベスト、ホルモン、メソキシソラレンなど特殊な癌原物質を含み、明らかな小核陽性物質は除いてある。その結果、データの得られた50検体のうち陽性を示したものは15、陽性が疑われるものは12検体であった。相関性の評価においてはヒトと動物の種差、標的臓器、主たる作用がイニシエーションかプロモーションかなど様々な要因を考慮する必要がある。現在確認試験および文献的な検討を進めており、マウス骨髓における小核誘発性とヒト癌原性の関連について考察する。

P-62

マウス小核試験におけるヒト癌原物質の反応 - 性ホルモンについて -

○本田幸子¹、大内田昭信²、浅野哲秀³、
杉山千代美⁴、小林浩⁴、佐藤茂秋¹ (¹富山
衛研、²大鵬薬品、³日東電工、⁴資生堂)

マウス小核試験が、ヒト癌原物質をどれだけ検出できるかを検討している。

今回は、ヒトの発癌性が認められているか、あるいは疑われている性ホルモンについて、マウスの小核試験等を行い検討したので報告する。なお、今回の検討は第6回小核試験共同研究の一環として実施されたものである。

用いた4被験物質、投与量、マウス、方法等は以下のとおりである。

① Diethylstilbestrol (DES): 75, 150, 300mg/kg, CD-1 8週齢雄雌マウスにip 1回投与、0, 24, 48, 72, 96 時間後に末梢血網状赤血球中の小核を観察。

② Hexestrol: 75, 150, 300mg/kg, ddY 8週齢雄マウスにip 1回投与、48 時間後の骨髓多染性赤血球中の小核を観察。

③ 17-Estradiol: 500, 1000, 2000mg/kg, BDF1 雄雌マウスにip 1回投与、0, 24, 48, 72 時間後に末梢血網状赤血球中の小核を観察。

④ Testosterone: 200, 400, 600, 800mg/kg, ddY 8週齢雄マウスにip 1回投与、0, 24, 48, 72 時間後に末梢血網状赤血球中の小核を観察。

以上の結果、小核の最大出現頻度は①0.38②0.12 ③0.28 ④0.20%となり、それぞれ対照の0.12、0.20、0.24、0.16%に対し有意な増加は見られなかった。現在、マウスの系統差、経胎盤法、染色体異常試験法等についても検討しており、それらについても合わせて考察する。

P-63

2-AAFの小核試験－性差、
系統差および連投効果－第2報

○浅野哲秀（日東電工、安全性研）

2-Acetylaminofluorene(2-AAF)は、マウスを用いた小核試験において、誘発頻度に性差があり、多回投与はほとんど効果を示さないことが報告されている。昨年の本大会では、2-AAFは骨髓と同様に末梢血でも十分に小核を検出し得ることを報告した。今回、2-AAFを単回および2回投与した時、骨髓と末梢血のピークの時間的出現の差を2系統のマウスを用いて明らかにし、また2-AAFを前処置をした場合および17 β -Estradiolの小核誘発に及ぼす効果についても検討した。

8週齢のCD-1およびBDF1マウスに2-AAF(75mg/kg～450mg/kg)を単回または2回ip投与後、それぞれ0, 24, 48, 72時間目に骨髓および末梢血より標本を作製し、観察した。また前処置としては投与1週間前に50mg/kg x2または100mg/kg x1をip投与した。さらに17 β -Estradiolは0.1～100mg/kgをip投与し、2-AAF 150mg/kgを同時にip投与後、0, 24, 48, 72時間後的小核を観察した。

単回投与の場合、末梢血でのピークは骨髓でのピークより概ね24時間遅延して出現したが、BDF1マウスの高用量群では骨髓と末梢血の小核出現の時間差はなかった。前処置をした場合、小核誘発には大きな影響を与える、17 β -Estradiolの投与では性差を示唆する結果を得られなかった。これらの結果について考察する。

P-64

Dibenz[a,h]anthracene の小核試験

○近藤耕治、宮島博文（塩野義製薬 研）

Dibenz[a,h]anthracene (DBA) の小核誘発能を調べるため小核試験を行った。DBAは国際癌研究機関 (IARC) でグループ2Aにランクされているヒト発癌性の疑いの高い物質であるが、小核誘発性に関する報告はない。

試験には CD-1 マウス（日本チャールスリバー）の8週齢雄を使用した。DBAの一回ip投与による毒性を調べた結果、2,000mg/kg 用量でマウスの死亡は認められなかった（投与後3日間）。各群2匹ずつのマウスに2,000mg/kg を最高用量としてDBA一回投与後、24、48、72時間目に骨髓塗抹標本を作製する小核予備試験では、各時間群とも小核誘発は認められなかった。そこで、DBAの最高用量を1,000mg/kg とし、各群5匹のマウスを用い、投与後48時間目に骨髓塗抹標本を作製する小核試験を行ったが、DBA投与各群とも媒体対照に比し有意な小核の誘発は認められなかった。

現在さらに末梢血を用い、マウス系統をかえてDBAの小核誘発能を検討中である。

尚、本研究は癌原性と小核試験との相関性を検討する第6回小核試験共同研究 (JEMS・MMS分科会)の一環として実施した。

P-65

Benz[a]anthracene の小核誘発性に関する検討

○直 弘、畠山義朗、鈴木修三（実中研・前臨床医学研）

ヒトにおいて発癌性の疑いが高い物質とされているBenz[a]anthracene(BA)の小核誘発性を正常あるいは生体内グルタチオンレベル低下モデルを用いて検索した。本研究は小核試験共同研究グループの第6回小核試験共同研究の一環として実施した。

8～9週令のCD-1(ICR)系オス・マウスを用いた。簡易急性毒性試験の結果からBAのLD₅₀は1600mg/kg以上であり、本実験では250, 500あるいは1000mg/kgの用量で腹腔内投与を行った。投与24, 48および72時間後に骨髓または末梢血液の塗抹標本を作製して小核の出現頻度を調べた。また、BAを投与した後、生体内グルタチオン低下物質としてdiethyl maleate(DEM)を皮下投与したマウスの小核試験も同時に実施した。

正常マウスにおいては、BAのいずれの用量および時期においても明確な小核の誘発は認められなかった。また、DEM投与マウスにおいてもBA投与によると思われる小核の誘発は認められなかった。現在さらにbuthionine sulfoximineや他の生体内グルタチオン低下物質によるグルタチオンレベル低下モデルにおけるBAの小核誘発性に關し検討中である。

P-66

p-aminoazobenzeneのマウスを用いる小核試験

○関 博、倉持 正博、田沢 正（株）ビー・エム・エル 安全性試験部

p-aminoazobenzene(p-AAB)は、WHO・IRACの分類によると「2B」に属する発癌物質である。本剤の小核試験に関するデータはほとんど見受けられない。我々は今回 JEMS・MMS 分科会による共同研究の一環として本剤の腹腔内投与(オリブ油に懸濁)によるマウス小核試験を実施したのでここに報告する。

【方法】

Slc:ddY マウス雄(8週齢)を用いた。一群2匹の予備試験では13～200mg/kg 1回投与後、24h, 48h および72h で骨髓を採取した。投与後6匹中1匹が24時間以内に死亡したが、24時間処理群ではPCE/NCEの比率が明らかに減少し、小核誘発率が多少上昇する傾向にあった。従って、本試験では50～300mg/kg の用量を用い、24時間目に標本を作製した。

【結果】

p-AAB 200 および300mg/kg 投与群ではそれぞれ1.4% および1.0%のMNPCEが出現した。ただし、300mg/kg群では6匹中4匹が死亡した。これらのデータからp-AABは致死量に近い用量で、明らかに小核を誘発することを確認した。なお、2回投与による末梢血小核試験を検討中である。

P-67

β -butyrolactoneの小核試験

○朝波 省吾, 下野 和之, 植島 基雄
(大塚製薬工場 鳴門研究所)

第6回小核試験共同研究「マウス小核試験とヒト癌原性と相関性」の一環として、ヒトへの癌原性が示唆されている β -butyrolactoneを用いたマウス小核試験を実施したので報告する。8週齢の雄ddYマウスに β -butyrolactone(1500, 1200, 750, 375 mg/kg)を腹腔内に2回投与し、最終投与24時間後および48時間後に標本作製した。

その結果、最高用量である1500mg/kg投与の24時間後標本作製群および48時間後標本作製群にそれぞれ1例づつ死亡例が観察され、統計学的に陰性対照群に対して小核出現頻度の上昇を認めた。しかし、動物間の個体差が大きく、小核の誘発性については明確に評価できなかった。そのため、追加試験として静脈内投与による検討、末梢血を用いたマウス小核試験およびin vitro染色体異常試験を実施し、 β -butyrolactoneの小核誘発性の有無を評価する。

P-68

Diethyl sulfate およびdimethyl sulfate のマウスを用いる小核試験

○宮前陽一¹, 山田弘², 平井収¹, 坂口正之²
野口英世¹, 佐々木有²(¹ 藤沢薬品, ² ファイザー製薬)

Diethyl sulfate(DES)およびdimethyl sulfate(DMS)は、IARCモノグラフにおいて、ヒトでの発癌性が疑われる物質(Group 2A)に分類されているが、ホ乳類での小核誘発作用は不明である。そこで、マウスを用い、小核誘発作用について調べたので報告する。なお、本試験は、第6回小核試験共同研究の一環として実施した。

〔方法〕 DES はコーンオイルに溶解し、10週齢のBDF₁系雄マウスに50~200mg/kgの用量で単回腹腔内投与した。DMS はオリーブオイルに溶解し、9週齢のCD-1系雄マウスに57~225mg/kgの用量で単回経口投与した。検体投与0, 24, 48および72時間後に、DES は末血および骨髄細胞を、DMS は末血を採取し、アクリジンオレンジ染色を行い、小核を有する網状赤血球数(MNRET_s)を測定した。

〔結果〕 DES では、末血、骨髄細胞のいずれにおいても、200mg/kgの用量で MNRET_s の有意な増加が認められた。また、DMS では、MNRET_s の増加傾向が認められたものの有意差は認められなかった。

以上、DES は、明らかな小核誘発作用を示した。なお、DES と DMS の小核誘発作用の差異がプロトコールの違いに由来する可能性も考えられるため、更に検討を進めている。

P-69

Chloromethyl methyl ether に関する細胞遺伝学的検討

○玉井 功一, 橋渡 恒憲(保健科学研・
変異原性試験室)

IARCモノグラフ¹ (ヒト癌原物質)に分類された Chloromethyl methyl ether (CMME) に関する細胞遺伝学的な報告はほとんどなされていない、そこで、第6回小核試験共同研究の一環として本化合物の *in vivo* 小核誘発性ならびに *in vitro* 染色体異常試験を行ったので報告する。

Chloromethyl methyl ether は、メチル化剤として工業用に広く用いられている。小核誘発性については、CMME 31.25~2,000mg/kgをcrj:CD-1(ICR) 8週齢雄マウスの腹腔内へ投与した(250, 500, 1,000, 2,000mg/kg群は投与後死亡した)。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.)コートスライドグラスを用いて標本を作製し、原則として翌日観察した。次に CMME 25, 50, 100mg/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(採取時間は、投与後24及び30時間)。

染色体異常試験は、CHL細胞を培養フラスコ内で CMME 0.039mM~10mM 24及び48時間処理を行い分裂頻度を測定した。次に 0.04mM を最高用量として染色体異常を測定した。

その結果、小核誘発性は、100mg/kg群で投与後24時間目に微弱ではあるが、小核の誘発性を認め、染色体異常誘発性は、24時間で明らかな誘発性を示した。

尚、小核誘発性及び染色体異常誘発性については、追加にて確認試験を実施中である。

P-70

紡錘体形成阻害作用をもつロテノンの小核誘発能

○加藤朋子、松元郷六、太田敏博
(残留農薬研究所)

小核試験において、紡錘体形成阻害剤であるコルヒチンやビンプラスチンによって誘発される小核は、染色体の断片に由来する通常の小核よりも大きいことが報告されている。これらの小核は分裂時の赤道板上に取り残された1本または数本の遅延染色体に由来しているものと考えられているが、コルヒチンやビンプラスチンには構造的染色体異常誘発作用もあるため、染色体断片由来の小核と遅延染色体由来の小核との区別は必ずしも明確ではない。

殺虫剤ロテノンがCHL細胞に対して、異数体および倍数体の他、数的染色体異常としては稀である核内倍加(Endoreduplication)を高頻度で誘発することを見い出し報告した(Mut. Res., 263, 173-177, 1991)。しかし、ロテノンは構造的染色体異常を全く誘発しないことからコルヒチンなどとは異なる"pure"な紡錘体形成阻害剤であると考えられる。

そこで今回、ロテノンの小核誘発作用について検討した。

8~10週齢のCD-1マウスにロテノンを15mg/kgで腹腔内投与し、骨髄赤血球中の小核の出現頻度を調べた。単回投与で投与48時間後に小核の増加が認められた。ロテノンにより誘発された小核の形態、大きさについて、コルヒチンの場合と比較した結果について報告する。

P-71

Ara-CのAO超生体染色による末梢血小核試験

○岩倉啓子¹、田村博信¹、松本明子¹、安心院祥三²、小椋正造²、柿本敬治朗²、松元孝範²、林真³
(¹日本新薬・安全性研究所、²化学品検査協会・日本研究所、³国立衛試・変異遺伝部)

1- β -D-arabinofuranosylcytosine(Ara-C)はJ EMS・MMS分科会第5回共同研究の結果から骨髓細胞を用いる方法と同様に末梢血を用いる方法によっても検出可能であり、小核検出のピークには24時間の遅れがみられることが明らかにされている。

今回は、骨髓から末梢血への移行時間を12時間間隔で詳細に検討した。8週齢の雄CD-1マウスにAra-Cを単回腹腔内投与後、骨髓塗末標本を作製すると同時に尾部より採血して、それぞれGiems染色およびAO超生体染色により小核を有する細胞の観察を行った。骨髓中でのMNPCEのピークは低用量と最高用量群で多少ずれるものの、投与24時間後に認められた。一方、末梢血中でのMNPETのピークは全用量で36時間後に見られた。よってMNPCEからMNPETへの移行時間は12時間であると考えられる。また、25.0および50.0mg/kg静脈内投与後血漿中のAra-Cの濃度を測定したところ、両濃度とも0.5時間でピークに達して3時間後には消失したことから薬物動態による影響はないものと考えられた。

末梢血を用いる小核試験の欠点の一つは骨髓における全赤血球中の多染性赤血球の割合(PCE%)のような細胞毒性の指標がないことが挙げられる。網状赤血球をタイプI(最も幼若なもので細胞質のほとんどの部分を網状顆粒質が占める)～タイプIV(点状の顆粒が観察される)の4つのタイプに分類して小核を有する比率を求めたところ、全網状赤血球中のタイプIの比率が細胞毒性の指標となると考えられた。実際には、判別の困難なタイプIVを除外して共同研究における観察対象であるタイプI～IIIに占めるタイプIの比率がその指標となろう。

P-72

アセトアミドの変異原性
(小核試験を中心とした検討)

—第6回小核試験共同研究—

○三浦大志郎、笠原義典、中井康晴、八木君枝、平林圭子、蒔田徳太郎(帝人生医第2研)

アセトアミドは肝癌を誘発することが知られ、IARCによる分類でグループ2Bの発癌物質とされている。現在、小核試験共同研究グループではマウス小核試験とヒト癌原性との相関性について調べているが、我々はアセトアミドを担当してマウス小核試験を主とした変異原性の検出を試みた。

〈方法〉

小核試験では、検体を生理食塩水に溶解、8週令、雄マウス(CD-1, BDF₁, C57BL/6)にi.p.投与した。通常の方法による骨髓ギムザ染色標本またはAOコートによる末梢血の超生体染色標本を作製し観察した。エームス試験は通常のプレインキュベーション法により実施した(菌株: TA97, TA98, TA100, WP2)。

〈結果・考察〉

最高投与量を2000mg/kgとした実験では24～72時間の採取時間では小核誘発性は認められず、また、同一ロットのアセトアミドを使用したエームス試験では全使用菌株において陰性の結果を得た。現在さらにdoseを上げた実験を検討しているが、これまでの結果からはアセトアミドの発癌性と小核試験あるいはエームス試験による変異原性の結果との間に相関性は認められず、このことはアセトアミドの発癌作用においてイニシエーション活性は低いことを示唆している。

P-73

Azaserineのマウス小核試験

○湯野幸一郎、玉起美恵子、宮内美津江、若田明裕(山之内製薬 安全性研究所)

Azaserineは制癌剤であり、国際癌研究機関(IARC)でグループ2B(ヒト発癌物質の疑いのあるもの)にランクされている化合物であるが、現在までにこの物質に関する小核試験の結果は報告されていない。そこで、我々はこの化合物の小核誘発性をマウスを用いて検討した。この試験は、本学会哺乳類動物試験分科会の第6回小核試験共同研究の一環として行った。

〔方法〕 9週齢のCD-1雄マウスを用い、azaserineを生理食塩液に溶解し、腹腔内に1回あるいは2回投与した。最終投与の24時間後に骨髓塗抹標本を作製し、小核を持つ幼若赤血球を計数した。

〔結果〕 この物質の腹腔内投与時の概略のLD₅₀値を求めたところ80mg/kgであった。これを基に標本作製時期の検討のため、60, 30, 15mg/kgを各2匹のマウスに投与し、投与24, 48, 72時間後に標本を作製し小核を観察した。その結果、いずれの用量でも投与24時間後に他の時間より高い小核の誘発が観察された。

以上の結果より、azaserine 60, 30, 15mg/kgを各5匹のマウスに1回腹腔内投与し24時間後に小核誘発性を観察したが、明確な小核誘発性は認められなかった。しかし、同投与量を24時間間隔で2回投与し最終投与の24時間後には、有意な小核誘発性(溶媒対照群の約4倍)が認められた。以上の結果より、azaserineには弱いながら小核誘発性があることが分かった。

P-74

Acrylonitrileのマウス小核試験におけるヒト癌原性との相関性の検討

○畠中 豊、豊田佳子、北川義徳、諫訪芳秀(サントリー・基礎研究所)

Acrylonitrileは合成繊維あるいは合成樹脂の工業プロセスにおいて広く使用されているが、その安全性に関しては、既に細菌および哺乳動物細胞に対する変異原性、動物に対する発癌性について、いくつかの報告がなされている。また、国際癌研究機関(IARC)は、これらの報告から、その暴露がおそらくヒトに対する発癌性をもつものとして"グループ2A"にランクしている。今回、我々は小核試験共同研究グループの共同研究の一環として、マウス小核試験とヒト癌原性の相関性をAcrylonitrileを用いて検討した。

8週齢のCD-1雄マウスにAcrylonitrile(5.6, 11.3, 22.5, 45.0mg/kg)を単回腹腔内投与後、骨髓を用いた方法においては24, 48, 72時間目に大腿骨より骨髓塗抹標本を作製し、ギムザ染色により観察した。一方、末梢血を用いた方法においては0, 24, 48, 72, 96時間目に経時的に尾部より採血、アクリジンオレンジコートしたスライドグラスに滴下し、蛍光顕微鏡を用いて観察した。

その結果、小核出現頻度は、骨髓を用いた方法(0.08-0.34%)および末梢血を用いた方法(0.08-0.22%)共に、対照群(各々0.08%, 0.14%)と同レベルであり、今回の試験条件下では、対照群との有意な差は認められなかった。

現在、投与経路および投与回数の影響について検討中であり、これらの結果を含めAcrylonitrileにおけるマウス小核試験と癌原性との相関性について考察したい。

P-75

鉱物油 (Mineral oil) の小核誘発性

○中嶋圓、北沢倫世、鵜飼優慈、藤原正孝、
井上博之 (〔財〕食品農医薬品安全性評
価センター)

IARCモノグラフに収載されている鉱物油は未処理油等では Group1にランクされ、ヒトに対する発癌性の根拠が十分に示されている。一方、高純度に精製した鉱物油では発癌性の根拠が不十分である事から Group3に分類されている。そこで、マウスを用いる小核試験結果とヒトに対する癌原性との相関性を検索する事を目的として、現在入手可能な鉱物油（高純度精製品）について小核誘発性の検討を行った。本研究は、JEMS・MMS分科会の第6回小核試験共同研究の一環として実施した。

あらかじめ実施した英国毒性学会 (BT
S) の固定用量法を用いた単回投与試験結果を基に、500, 1000および 2000 mg/kgの鉱物油を BDF₁ 雄マウス (8週齢) に腹腔内投与した。投与後 40, 48, 64 および 72 時間の4回にわたり末梢血液を採取し、林らのアクリジン・オレンジ蛍光染色法に若干の改良を加えた方法を用い小核赤血球を計数した。さらに、2回あるいは4回連続投与した動物についても経時的に小核の出現数を計数した。

その結果、高純度に精製した鉱物油ではいずれの用量、いずれの観察時期においても小核赤血球の有意な誘発は認められなかった。

P-76

Erythropoiesisから見た小核試験

(その5) アスピリンの小核誘発能に与える影響

○ 鈴木勇司、清水英佑、福本正勝、小此木
英男 (慈恵医大 公衆衛生)

第15回大会以来、erythropoiesisの変化が小核試験の結果に影響を及ぼすことを明らかにしてきた。最近、アスピリンの発癌予防効果について議論されている。そこで今回は、アスピリンが小核試験の結果に与える影響を検討したので報告する。

【方法及び結果】1) アスピリン自身には小核誘発能は認められなかった。2) BALB/cマウスにアスピリンを24時間の間隔をもつて2回腹腔内投与してから0, 24, 48, 72時間後にmitomycin C (MMC:0.5mg/kg)を1回腹腔内投与した。MMCを投与してから30時間目に骨髄細胞を得た。アスピリンとMMCの投与間隔が短いほど、MMCによる小核誘発は抑制された。3) アスピリンの投与量を17.5, 35, 70, 140mg/kgを2回腹腔内投与してからMMC (0.5mg/kg)を直ちに1回腹腔内投与すると、アスピリンの投与量が高いほどMMCによる小核誘発は抑制された。

【考察】赤芽球系の細胞の分化・増殖にはerythropoietinが関与している。Erythropoietinは prostaglandin E₂等により産生が亢進される。今回の実験で用いた、アスピリンは prostaglandinの合成阻害剤として知られている。従って、アスピリンの小核誘発抑制作用は、erythropoiesisが抑制を受けたためと考えられる。

P-77

強磁場にマウスを全身曝露したときの小核誘発について

○ 清水英佑、鈴木勇司、福本正勝、小此木
英男 (慈恵医大 公衆衛生)

昨年までの本学会において、定常磁場の染色体レベルへの作用をみるため Ames test、CHL細胞による小核試験にて検討したが陰性を示した。磁場の生体影響を検討する必要性から、本年度はマウス全身曝露後的小核試験にて検討した。また、磁場のフッ化ナトリウムおよび 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA)をマウス投与後磁場曝露したときの小核誘発に及ぼす影響も検討したので報告する。

【方法】磁場曝露装置として、日本電子製NMR JEOL NM-SCM 200/330を用いた。1)BALB/c雄マウスを4.7テスラの磁場強度で1~72時間曝露した。また、曝露直前と屠殺時のマウスの体重の変動率を求めた。2)NaF (30~10mg/kg)または DMBA (40~10mg/kg)を投与後、磁場に24時間曝露した。大腿骨より骨髄細胞を得、小核を有した多染性赤血球の割合を求めた。

【結果】磁場に24時間以上マウスを曝露した時に有意に小核が誘発され、曝露時間が長いほど小核誘発頻度は高かった。体重の変動率も磁場への曝露時間が長いほど、体重の減少を認めた。磁場とNaFを複合曝露すると相加的に小核誘発亢進が認められ、DMBAとの複合曝露では、DMBAによる小核誘発は抑制された。

【考察】絶食と給水制限により小核誘発が認められたとの報告がある。本実験では、餌と水を自由摂取させたが、マウスの体重は減少した。磁場による小核誘発亢進作用は、磁場曝露によりストレスを受けて、摂餌量が減少したためか、磁場そのものの作用なのか今後の検討を要する。また、磁場と化学物質を複合曝露した場合に変異原性の亢進と抑制が認められたことは、化学物質の構造が関与している可能性があるので、今後検討する。

P-78

Silica silicis
anhydriteのマウスの末梢血を用いた小核試験

○安心院祥三、柿本敬次郎、小椋正造、梶原美次、(化学品検査協会 日田研究所)

今回は、JEMS・MMS分科会の第6回共同研究の一環として、被験物質に国際癌研究機関 (IARC) でグループ2A (ヒト発癌物質として疑いの高いもの) に分類されているシリカクリスタルの関連物質として、Silica silicis anhydrite (SiO₂) を担当し、その小核誘発能についてマウスの末梢血を用いて検討した。

簡易急性毒性試験の結果 (LD₅₀ > 5,000mg/kg) に基づき、500, 1,000及び 2,000mg/kgを0.5%CMC水溶液を溶媒とし、Crj: CD-1 (ICR) 8週齢雄マウスに腹腔内投与した。投与回数は24時間間隔の2回連続投与とした。初回投与24, 48, 72及び96時間後に尾部より採血し、アクリジンオレンジ塗布スライドグラスに滴下後、螢光顕微鏡で、網状赤血球中の小核の誘発について観察した。

その結果、被験物質のすべての投与群のすべての標本作製時期において、小核の誘発は認められなかった。現在 SiO₂ の投与用量及び投与経路等を変更してさらに検討を行っており、それらの結果についても合わせて考察する。

P-79

Arsenic trichloride のマウス末梢血液を用いた小核試験

○中島栄一, 岡 佳江 (東洋紡医薬研究所)

Arsenic trichloride はヒトでの発癌性が明らかにされており、IARCモノグラフのグループ1にランクされている化合物である。今回、第6回小核試験共同研究の一環として、Arsenic trichloride について、マウス末梢血液を用いた小核試験を実施したのでその結果を報告する。

投与容量は、Lorke の方法に準じLD₅₀値を求め、その約80%を最高用量とした。5.5, 11, 22mg/kgをcrj:CD-1(ICR)8週齢雄性マウスに単回又は2回i.p.投与し、投与後0, 24, 48, 72 時間に同一個体の尾部より採血し、アクリジンオレンジ(A.O)コートスライドを用いて標本を作製した。標本作製の翌日に、蛍光顕微鏡下で1スライドにつき1000個の網状赤血球を観察した。

単回投与では、濃度依存的に小核出現頻度が増加し、投与後48時間目にピークが認められ、明らかに陽性の結果が得られた。一方、2回投与では、投与後24時間目、48時間目とも高い小核出現頻度を示したが、その頻度は単回投与時のものとほぼ同様の値であり、2回投与の効果は認められなかった。

P-80

Arsenic acid のマウスを用いた小核試験

○近藤 靖、東口卓史、仁藤新治、浅野裕三、有行史男 (田辺製薬、安全性研究所)

ヒ素およびヒ素化合物は IARC のモノグラフ (SUPPLEMENT7, 1987) でグループ1 (ヒト癌原物質) に分類されている。ヒ素化合物のうち arsenic acid (ヒ酸) では、哺乳動物細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験の結果から、染色体異常誘起性を有する (主にギャップ) ことが明らかにされている。しかし、本物質の *in vivo* での報告は未だ見当たらない。そこで、arsenic acid のマウスを用いた小核試験を行い、*in vivo* への影響を検討したので報告する。なお、本研究は第6回小核試験共同研究 (JEMS・MMS) の一環として実施した。

まず、投与量設定のための予備試験を行ったのち、8週齢の CD-1 雄マウスに arsenic acid の 1, 5, 10 および 20 mg/kg を 1 回あるいは 24 時間間隔で 4 回連続腹腔内へ投与した。投与後 (4 回投与では最終投与後) 24 時間に骨髄塗抹標本を作製し、ギムザ染色を施したのち、鏡検した。その結果、単回投与では、20 mg/kg の群で小核出現頻度の増加が若干認められた。4 回投与では、単回投与よりも小核出現頻度が増加し、用量依存性も観察された。

P-81

金属化合物の小核誘発作用に関する検討

○伊東悟 服部千春 松浦由美子
島田弘康 (第一製薬株式会社 開発研究所)

金属化合物の中には変異原性を示すものが多く、一部にはマウス・ラットやヒトでの発癌性が報告されている。金属化合物はそのイオン価や塩の種類により変異活性が著しく異なることが知られているが、バクテリアや培養細胞での検討が主で動物個体での報告はあまり多くない。今回我々は *in vitro* で変異原性を示す金属化合物のうち、クロム (K₂CrO₄, CrCl₃) マンガン (MnCl₂, MnSO₄)、セレン (H₂SeO₃, Na₂SeO₄) およびニッケル (NiCl₂, NiSO₄) についてマウス小核試験により検討した。なお、本研究の一部は JEMS・MMS 分科会共同研究の一部として実施した。

上記化合物を 1 回あるいは 2 回 ddY 系雄マウスに投与して、骨髄細胞での小核誘発性について検討した。その結果、K₂CrO₄ および H₂SeO₃ に顕著な小核誘発作用が認められたが、他の化合物には小核誘発作用は認められなかった。また、K₂CrO₄ あるいは H₂SeO₃ は 2 回投与の方が 1 回投与に比べ小核誘発率が低くなる傾向が認められたこと、さらに投与 24 時間前に Bi(NO₃)₃ を皮下投与すると小核出現頻度が低下したことから、これら金属化合物の小核誘発機構にはメタルチオネインの関与が考えられた。

以上の成績をもとに、金属化合物の小核誘発作用の特徴について論ずる。

P-82

硫酸ベリリウムの小核試験

○瀬良貴子、竹中栄二、連川佳代子、馬場恒夫
(ダイセル化学工業株式会社 総合研究所)

JEMS・MMS 第6回小核試験共同研究として、発癌性が疑われている硫酸ベリリウム四水和物 (BeSO₄ · 4H₂O) について、マウスの末梢血を用いる小核試験を実施した。

動物はマウス (CD-1) の雄、8週齢を用い、投与経路は、腹腔内投与とし 1 回行った。最高用量は、急性毒性試験の結果より、31.25 mg/kg として用量段階は、公比 2 とした。染色は、アクリジンオレンジによる超生体染色法を用い、末梢血に含まれる網状赤血球 1000 個当たりの小核誘発率を検討した。

その結果、MMC の 0.5 mg/kg の投与量に於ては、48 時間後には 2.2% の小核誘発率を示したが、硫酸ベリリウム四水和物の場合、投与 24, 48 及び 72 時間後的小核誘発率は、0.1 ~ 0.3% の範囲であった。

従って、硫酸ベリリウム四水和物は、本試験条件下に於ては、小核誘発性はないものと考えられる。

P-83

ラット肝細胞を用いた小核試験

○東口卓史、近藤靖、仁藤新治、浅野裕三、有行史男（田辺製薬、安全性研究所）

大部分の薬物代謝を行っている肝臓では、他の器官より高い濃度の代謝物が存在すると考えられることから、小核試験の標的細胞を肝細胞にした場合、代謝物の小核誘発能を明確に検出できると予想される。Tates らは、骨髓細胞を用いた小核試験で陰性（あるいは弱陽性）結果を示す DEN および DMN の肝細胞を用いた小核試験を実施し、明らかに小核誘発能があることを証明している。本研究では、種々の変異原物質について、肝細胞を用いた小核試験を実施し、本法の有用性を検討したので報告する。

動物は、CRJ:CD(SD)系雄ラットを 8 ないし 10 週齢で用いた。化学物質は、MMC(2 mg/kg, ip)、CP(50 mg/kg, po)、Aflatoxin B1 (2.5 mg/kg, ip) および、DMN (10 mg/kg, po) を用いた。部分肝切除を施したラットに各物質（陰性対照では生理食塩液）を投与し、24 時間後に、肝細胞をコラゲナーゼ灌流法にて分離した。得られた肝細胞をアクリジンオレンジにて染色し、蛍光顕微鏡で小核形成の有無を観察した。その結果、MMC では小核誘発能が認められなかった。その他の変異原物質では、陰性対照群の 3-5 倍の小核を有する肝細胞が観察され、有意な増加が認められた。

P-84

ラット末梢血小核試験 — II —

○青儀巧、小原淑子（大塚製薬安全性研究センター）

昨年の本学会で、ラットにおいても末梢血の幼若網赤血球を小核試験に利用できることを cyclophosphamide などについて報告した。今回、これらとは異なる小核誘発の機作を示す 4-aminobiphenyl (4-AB) と colchicine (COL) についてラット末梢血小核試験を実施した。また、第6回小核共同研究の一環として、ヒト癌原性が確認されている 4-AB についてはマウスも合わせて検討した。

1群4~5匹のSDラットまたはICRマウスに被験物質を単回または反復投与した。投与 0, 24, 48, 72 時間後に末梢血を尾静脈より採血し、林ら^{1,2)}のアクリジン・オレンジ超生体染色法により標本を作製し、1個体当たり 2000 個の幼若網赤血球を観察し、小核頻度を求めた。

その結果、4-AB は赤血球の異形・ヘモグロビンの変性と共に小核を誘発した。COL は骨髓に比べて末梢血では最高 0.5% と低い小核誘発頻度を示した。

なお、1-および 2-aminonaphthalene と 2-aminobiphenyl についても検討中である。

1) Mutat. Res., 1990, 213, 91-104

2) Mutat. Res., 1991 (in preparation)

P-85

ショウジョウバエを用いた Resorcinol の変異原性の検討

○石原幸治、五十嵐伸一、中島和子、坂本了（日産化学工業（株）生物科学研究所）

昨年の本学会において Resorcinol はヒト末梢血リンパ球 in vitro 試験系および CHL 細胞に染色体異常を誘発することを報告したが、今回、われわれはその成因について調べるためにショウジョウバエの体細胞試験系を用いた。試験は、Drosophila wing spot test (WT) および Rec assay (RA) であり、ともに産卵後 48 時間目から混餌法で処理を行った。

その結果、Resorcinol 単独で蒸留水に溶かし処理した場合には、10 mg/ml まで処理しても WT, RA いずれにおいても明瞭な変異原性は観察されなかった。

一方で、ヒト末梢血リンパ球（全血培養）および CHL を Resorcinol 500 µg/ml で 24 時間処理した後、その培養液をショウジョウバエに処理したところ、WT において、spot/wing が培養液対照 0.37 に対して、それぞれ 0.65 および 0.69 と増加した。また、RA においても雌に対する雄の比が低下した。これらのことから、Resorcinol は一旦、リンパ球あるいは CHL へ何らかの作用をしたのち変異原活性をもつ可能性が考えられた。Resorcinol の染色体異常誘発における細胞特異性との相関について他の薬剤も用いて検討を加え報告する。

P-86

3種の変異原物質による in utero マウス初期胚の SCE 誘発

○三瀬敬治、浦澤正三（札幌医科大学 衛生学講座）

我々は昨年の本学会で、BALB/c 系マウスの受精後 6.5 日から 9.5 日の初期胚細胞に対する in utero 実験系を用いて、Mitomycin C (MMC) および N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) による姉妹染色分体交換 (SCE) 誘発の経時的変化を、（母体の骨髓細胞における SCE 誘発頻度と比較しつつ）検討し、MMC では 7.5 日胚、MNNG ではそれ以前に SCE 高誘発の時期がある可能性を示唆した。

本年はさらに受精後 5.5 日胚への影響を検討すると共に、変異原物質として新たに、N-Methyl-N-nitrosourea (MNU) を用いて同様の実験を行い、胚の発生段階による SCE 誘発の変化を検討した。

この結果 5.5 日胚において誘発される SCE は MMC では 6.5 日および 9.5 日胚と同程度であり、MNNG では 6.5 日胚よりも少なく 7.5 日胚と同程度で、8.5 日および 9.5 日胚よりも有意に多く観察された。この結果は昨年の成績、すなわちマウス初期胚細胞が MMC および MNNG に対し、一峰性の感受性のピークを有するという結果を支持、補足するものである。

しかし、MNU によって誘発された SCE 頻度は、同条件で行った母体骨髓細胞における SCE 誘発よりも、発生の各日令を通じて常に多く観察されたものの、MMC や MNNG に見られたような明瞭な感受性のピークは認められなかった。

P-87

MNNGにより誘発されるCHL細胞の極微弱発光について（その2）
——染色体異常試験との比較——

○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）

CHL細胞の培養系からMNNGにより極微弱発光が誘発され、その発光が濃度依存性であり、酸素存在下で認められること、SODやNaN₃により発光が減少することは、昨年の本学会で報告した。また、培地交換直後のCHL細胞からは発光が認められず、培養上清から発光が認められることについても報告した。今回我々は、同条件下で染色体異常試験を行い、SOD、培地交換による効果の検討を行った。

＜方法＞ 極微弱発光の測定は、真空シングルフォトンカウンティングシステムを用いて、37°C 5%CO₂の条件下で行った。染色体異常試験は、MNNGの濃度を5 µg/ml とし、次の二つの方法で行った。

1) 30 min. TEST 5 µg/ml のMNNGをCHL細胞に添加した場合、最も顕著に発光が認められるのは最初の30分間であるため、処理時間を30分間とした。SODは、MNNG添加前に培地に加えた。

2) 24 h. TEST MNNG添加直前に、培地を交換した群としない群に分け、それぞれについてSODの効果の検討を行った。MNNGで30分間処理をし、その後培地交換をし、23.5時間培養後標本作製を行った。

＜結果＞ 30 min. TEST では、SODの添加によりMNNGにより誘発される染色体の異常は約半数となった。また、認められる異常は、chromatid gap と chromatid breakが大部分であった。24 h. TEST においても、培地交換とSODは同様の効果を示し、これらの結果から、MNNGの変異原性と、極微弱発光、活性酸素種の関与が示唆された。

P-88

太陽紫外線からの植物の防御機構

○大西武雄¹, 高橋昭久¹, 武田幸作²（¹奈良医大・生物、²東京学芸大・生物）

近年UVB層の減少が注目されはじめています。太陽紫外線のUVBが増加したり、現在地上にふり注いでいないUVCが地上にふり注ぐことは、動物特にヒトはもとより、植物にとっても大きな脅威であります。我々はヤグルマギクの茎から得たカス細胞を用いてUVBまたはUVCによるピリミジンジマ-生成量を測定した。ところがあらかじめ少量のUVBで培養中のカス細胞に照射しておくと、ジマ-生成量が抑えられていることを知った。その細胞にはあらかじめのUVB照射によって、フラボノイドの一種であるアントシアニンが合成されていることを知った。そこでアントシアニン合成欠損を単離した。その株ではあらかじめUVBを照射しておいてもジマ-生成量の低下がみられないことを知った。したがって植物のフラボノイドは動物の日焼けのメラニン色素のように太陽紫外線から防護していると考えている。またUVB・UVCで生成されたジマ-の光回復能も併せて報告する。

P-89

光力学作用をもつ化学物質のラジカル作用

○米田和子¹, 岩本サカエ², 小南清司¹, 橋本昇次¹, 大西武雄³（¹奈良医大・薬剤部, ²吉野保健所, ³奈良医大・生物）

我々は、光力学作用を化学物質アセトフェノン, 2-チオウラシル, 6-メルカaptopリノ, 8-メキシソラ-レンが、近紫外光UVAと同時存在でumu遺伝子の形質発現を誘発することを知った。

サルモネラ菌TA1535, TA1538にpSK1002を入れることによってumu遺伝子の形質発現誘導の度合をlacZの酵素活性量で求めた。アセトフェノンはDNAにチミンジマ-をもたらすことは知られているが、残りの3種については詳しく知られていない。

これら4種の化学物質は近紫外光により励起され、ラジカル生成を通じてDNA損傷を生成し、umu遺伝子の発現の誘導をもたらすものであろうと考え、ラジカルスカベンジャーであるKNO₂, クルタチオン, フタノール, システアミンを用いumu遺伝子誘発に対する影響をみた。

P-90

正常ヒトリンパ球におけるγ線及びマイトマイシンC (MMC) の複合影響

○飯島久美子¹, 森本兼義²（¹東大医母子保健, ²阪大医環境）

代表的な有害環境因子として放射線は古くから知られており、DNA障害を染色体を指標としてみた場合、染色体型の異常を引き起こす。一方、アルキル化剤であるMMCは染色分体型の異常並びに姉妹染色体分体交換 (SCE) を起こす。

今回、正常ヒトリンパ球を用いて、γ線及びMMCを同時に処理し、染色体構造異常並びにSCEを指標としてその複合影響について検討した。

その結果、まず正常ヒトリンパ球 (G₀) を0, 0.5, 1, 2, 4 Gy のγ線で照射することにより、染色体構造異常 (Dicentrics & Rings) の頻度は0.073±0.018, 0.151±0.026, 0.395±0.043, 1.594±0.067と上昇がみられた。また、 0.1×10^{-6} , 3×10^{-6} , 3×10^{-6} M のMMCで3時間処理したところ、SCE頻度は8.8±0.7, 11.7±1.0, 15.6±0.9, 33.7±1.3, 64.6±2.6と上昇がみられた。

次に、2 Gy のγ線と各濃度のMMCと同時に処理したところ、8.6±0.6, 10.9±0.6, 15.6±0.9, 32.6±1.6, 54.0±3.0と 1×10^{-6} M まではMMC単独で処理したのとSCE頻度はほぼ等しかったが、 3×10^{-6} M ではMMC単独よりもむしろ減少していた。

1×10^{-6} M のMMCとγ線では、0.055±0.005, 0.055±0.016, 0.156±0.027, 0.468±0.046, 1.335±0.072と4 Gy のγ線では、やはりγ線単独照射よりも染色体構造異常の頻度が減少していた。

P-91

IQの染色体構造異常誘発性について—S9処理条件の吟味—

○三浦邦彦¹、畠中みどり¹、若林敬二²、長尾美奈子²、石館 基¹
(¹オリパ染色体研、²国立がんセンター)

従来、2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ)は、哺乳類培養細胞に対して *in vitro*での染色体構造異常誘発性は無いと報告してきた。¹⁾しかし、今回我々は、CHL細胞を用いてS9の処理条件（処理時間／濃度）を変えることによって陽性結果を得たので報告する。

【方法】IQのCHL細胞における染色体構造異常誘発性の検索は、代謝活性化を行わない場合（直接法）と行う場合（代謝活性化法）のいずれも、基本的な操作は常法に従って行った。²⁾ S9処理条件の変法として2.5%および10%のS9濃度を用い、1hおよび3hの処理を行った。

【結果】IQは代謝活性化を受けてactive formになることが知られているが、標準的なS9処理条件（S9濃度5%、6h処理後18h培養）では、著名な染色体構造異常誘発性は観察されなかった。しかしながら、S9処理時間を3hとし、その後21hの回復時間をとった場合には、S9濃度2.5～10%の範囲で有意な染色体構造異常誘発性が観察された。今後更に、何故、短時間のS9処理によって構造異常誘発性が観察されたかを明らかにするため、その招来機作の検討を行う。

【参考文献】

- 1) Aeschbacher, H.-U., and Turesky, R. J.: *Mutation Res.*, 259: 235-250 (1991)
- 2) Ishidate, M., Jr. (ed.): *Data Book of Chromosomal Aberration Test In Vitro*, Elsevier, Amsterdam (1988)

P-92

Endoreduplicationからの異数体形成

○松元郷六、太田敏博（残留農薬研究所）

染色体の Endoreduplication（核内倍加、ER）は初代培養細胞や腫瘍細胞にしばしば観察される他、物理的または化学的にも誘発される。ERは数的染色体異常の一つとして分類されているが、その誘発メカニズムや生物学的意義、特に変異原性や発ガン性に対する影響については殆ど知られていない。

そこで今回我々は、ロテノンで誘発されたER細胞の有糸分裂後の変化について詳しく調べたので報告する。

大量のER細胞を得るため、ロテノンのER誘導時期が分裂中期である事（第19回大会、演者ら）を応用して、次の様な処理を行った。

チャイニーズハムスター株化細胞 (CHL-24) の非同調細胞集団にTN-16（同調試薬）を1時間処理し、分裂期の細胞をすべて中期で止めた後、ロテノン (10 µg/ml) を処理した。30分後、mitotic pipetting により中期細胞のみを集め、さらに2.5時間ロテノン処理をした。処理終了後、新しい培養液に交換し、カバースリップ上に播いて培養を続けた。以上の方法により、培養液交換後24～30時間に極めて高頻度（分裂細胞の約90%）でdiplo-chromosomeを持ったER分裂細胞を得る事が出来た。

コルヒチン無処理でER細胞の分裂過程を観察したところ、3極または4極紡錘体を持った中期細胞が現れ、3または4娘細胞が形成された。分裂時には、不均等な姉妹染色分体の分配や、遅延染色体が観察され、よって大きさの異なる娘核および小核が形成された。

以上の結果より、ER細胞は倍数体や2倍体細胞に進むのではなく、異数体細胞を形成してゆく事が強く示唆された。

P-93

ヘテロサイクリックアミン類の染色体異常増強作用

○山田弘¹、坂口正之¹、松村久子²、下位香代子³、佐々木有¹（¹ファイザー製薬、²残留農薬研、³ 静岡県大・食品栄養）

加熱食品中にはアミノ酸が熱分解することで生じたヘテロサイクリックアミン類が含まれている。これらヘテロサイクリックアミン類には変異原性・癌原性が知られている。今回、ヘテロサイクリックアミン類に染色体異常増強作用を認めたので、その結果を報告する。

【方法】UVまたはMMCで処理したCHO細胞をS9 mix存在下でTrp-P-1、Trp-P-2、Glu-P-1、Glu-P-2、IQ、MeIQ、diMeIQx、AαC、MeAαC、PhIPの10種類のヘテロサイクリックアミン類で後処理し、染色体異常を観察した。これらヘテロサイクリックアミン類の処理濃度は、それら自身が染色体異常試験を誘発する濃度の1/1000～1/10とした。

【結果】Trp-P-1、Trp-P-2、Glu-P-1、Glu-P-2、IQ、MeIQ、AαCはUVおよびMMCによる染色体異常の誘発を増強した。この染色体異常増強作用は主としてG1期で認められた。しかし、S9 mix非存在下での実験では、ヘテロサイクリックアミン類による染色体異常増強作用は認められなかった。

下位らは、以前、シノキサートおよびメチルシナペートがDNA除去修復を阻害することで染色体異常増強作用を示すことを報告したが、現象面では今回認められた作用と非常に類似したものである。そのため、ヘテロサイクリックアミン類の染色体異常増強作用がDNA除去の阻害に起因するものか、現在検討中である。

P-94

MNU処理によるマウス生殖細胞のDNA塩基損傷とその修復

○井上雅雄、宮越 稔、栗原孝行（金沢医大 総医研）

雄マウスにメチルニトロソウレア (MNU) を処理すると、そのF1に高頻度の突然変異が生じることが知られている。この標的生殖細胞は後期精原細胞または前レブトテン精母細胞と推定されている。

そこでMNU処理後の雄マウスの生殖細胞を分別し、そのDNAを抽出した。抽出DNAを加水分解した後、HPLCを用いてメチル化塩基を分別・定量した。その結果、MNUによって誘発されたメチル化塩基の生成量は、分別した各細胞群とも N7-methyl guanine (N7-MG) が最も高く、06-methyl guanine (06-MG) や N3-methyl adenine (N3-MA) はその約1/3であった。MNU処理後24時間における修復能は、N3-MAが最も高く、次いでN7-MG、06-MGは最も低かった。N7-MGとN3-MAに対しては各細胞群間の修復能の差は少なかったが、06-MGに対しては、前期精原細胞+精母細胞群の修復能が最も高く、次いで後期精子細胞+精子群で、MNUの遺伝毒性の標的細胞を含む後期精原細胞+精子細胞群は最も低かった。

これらの結果はマウスにおけるMNUの遺伝毒性機構の一端を反映しているものと思われる。

（この研究は文部省科学研究費の助成による）

P-95

アミノ酸・ブドウ糖の加熱物による
DNA鎖切断

平本一幸、吉田豊光、加藤哲太、○菊川清見
(東京薬大)

我々はアミノ酸・ブドウ糖混合物を加熱し、水に溶解すると強い化学発光を生じることを報告した。この発光はアミノ酸のなかでも Tyr, Phe および Trp をブドウ糖と共に加熱した場合の水溶液に特に強く、azide, histidine または DABCO を添加することにより阻害されることから、一重項酸素によると推察された。

今回、アミノ酸・ブドウ糖の加熱物の水溶液にDNA鎖切断活性があることを見いだし、その活性種について検討したので報告する。アミノ酸・ブドウ糖の加熱は、Tyr または Phe とブドウ糖を重量比 1:1 で混合し、200°C のホットプレート上で 5 分加熱した。λDNA(double strand)または ϕ x174RFIDNA (supercoil) を加熱物の水溶液 (0.1-0.2 mg/ml) と pH 7.0、37°C、24時間反応させると、いずれの DNA においても顕著な DNA 鎖切断が認められた。この切断活性は Tyr, Phe またはブドウ糖を個別に加熱した場合には認められず、Tyr・ブドウ糖および Phe・ブドウ糖の混合物の加熱においてのみ認められた。従って、この切断はメーラード反応の生成物によって起こっているものと考えられる。しかし、切断活性は azide または DABCO の添加によって阻害されないため、化学発光の原因である一重項酸素によるものではなく、他の活性種によるものと考えられる。加熱物の水溶液中の過酸化水素濃度を酸素電極法で測定したところ、いずれの加熱物においても殆んど検出されなかった。DNA 切断を引き起こすメーラード反応に由来する活性種について検討中である。

P-96

ショウジョウバエ体細胞DNAのアルキル化と突然変異誘発頻度との相関性

○伊東和雄¹、松田智子¹、根岸友恵¹、
許 南浩²、J. Thomale³、M. F. Rajewsky³
、早津彦哉¹

(¹ 岡山大・薬、² 東大・医科研、³ 独・
Essen 大)

アルキル化剤に暴露された生体において、DNAのアルキル化と発がんや突然変異誘発の間には相関性があるといわれている。しかしながら、経口的に摂取したnitrosamine によるDNA-アルキル化量とその時誘発される体細胞突然変異頻度との関係は明らかにされていない。われわれは、ショウジョウバエを用いて⁰-alkyldeoxyguanosineの生成量と突然変異誘発頻度の相関性を調べることを試みた。

体細胞突然変異検出 (翅毛 spot test) 用の幼虫を、6 時間、あるいは 12 時間N-nitrosodiethylamine で処理した後、一部の幼虫は成虫になるまで正常培地で飼育し、突然変異頻度を調べた。残りの幼虫からDNAを抽出し、nucleosideにまで分解した。これをHPLCで分画し、⁰-ethyldeoxyguanosine (⁰-EtdGuo) 量を測定した。測定はmonoclonal抗体を用いたradioimmunoassayで行なった。その結果、⁰-EtdGuo / dGuoの比は6時間処理で 1.60×10^{-5} (experiment 1), 1.99×10^{-5} (exp. 2)、12 時間処理で 3.13×10^{-5} (exp. 1)となり、処理時間に比例してエチル化体が増加した。この時変異原性は、large single spots / wingが0.18 (6時間), 0.42 (12 時間) となり、⁰-EtdGuo 量の増加率と相関性があることが示唆された。

P-97

MeIQx-グアニン付加体の構造

○田中芳乃¹、若林敬二¹、金 善奉¹、落合
雅子¹、棟谷東雄²、杉村 隆¹、長尾美奈子¹
(¹ 国立がんセ・研・発がん、² 静岡県立大・薬)

蛋白質性食品を加熱調理すると種々の変異・がん原性ヘテロサイクリックアミンが生成する。その内、2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-*f*]-quinoxaline (MeIQx) はPhIPに次いで多く生成され、ヒトは加熱食品より 1 日当たり 0.2~2.6 μg のMeIQxを摂取している。MeIQxにより生成される *in vivo* DNA付加体の主なものは、*in vitro*におけるヌクレオチドとの反応生成物との比較により、グアニン付加体であることがわかった。そこで、この付加体の構造を明らかにするために、まず、*N*-(guanine-8-yl)-MeIQxの合成を行なった。

グアニン 3-N-オキシド (0.6 mmol) をジメチルスルホキシド (15 ml) とジメチルホルムアミド (5 ml) の混液に懸濁し、この懸濁液に無水酢酸 (0.6 mmol) を加え、0°C、10 min 反応し、3-アセトオキシグアニンを合成した。次ぎにこの反応溶液にMeIQx (0.1 mmol) を加え、室温で 14hr 反応した後、生成物を HPLC で分離した。その結果、*N*-(guanine-8-yl)-MeIQxを 11.5 μmol 得ることができた。尚、化合物の構造は、NMR、MS 及び UVスペクトラムで確認した。現在、MeIQxの活性化体とDNAとを *in vitro* で反応させ、*N*-(guanine-8-yl)-MeIQxの生成の有無を調べている。

P-98

ステビオールによって誘発される
Salmonella typhimurium gpt 遺伝子突然変
異のPCR法を用いた解析

○松井道子、能美健彦、祖父尼俊雄
(国立衛試、変異遺伝)

日本において広く使用されている天然甘味料ステビオサイドのアグリコンであるステビオールは、復帰突然変異を検出する試験系 (Ames test) では変異原性を示さないが、前進突然変異を検出する試験系 (Forward mutation assay) では S9mix 存在下で変異原性を示すユニークな物質である。前進突然変異試験はプリン生合成に関与する guanine phosphoribosyltransferase 遺伝子 (gpt) に変異が起きると、*S. typhimurium* が 8-azaguanine (8-AG) 耐性となることを利用している。ステビオールによって誘発される突然変異の特徴を分子レベルで明らかにするために、ステビオールにより 8-AG 耐性となった株の gpt 遺伝子を PCR (polymerase chain reaction) 法を用いて增幅させ gpt 遺伝子上の変異を調べることにした。第一段階として *S. typhimurium* より gpt 遺伝子のクローニングを行い、その塩基配列を決定した。次いで決定した塩基配列にもとづき、gpt 遺伝子をはさむ両側のプライマーを合成し、ステビオールにより誘発された 8-AG 耐性の突然変異株および自然突然変異株から gpt 遺伝子を含む約 800bp の 2 本鎖 DNA を PCR 法で增幅した。片側のプライマーをリン酸化しておくと、増幅した 2 本鎖 DNA を *λ* exonuclease で消化することにより、効率よく 1 本鎖 DNA が生成し、gpt 遺伝子の塩基配列を決定出来ることが明かになった。現在変異株の gpt 遺伝子の塩基配列を解析中である。

P-99

Salmonella typhimurium 0⁶-メチルグアニン DNA メチル転移酵素 (MTase) 遺伝子欠損株の作成とその性質

○山田雅巳, 羽倉昌志[§], 松井恵子, 能美健彦, 祖父尼俊雄 (国立衛試・変異遺伝)

Ames test に使われる S. typhimurium は, MTase 活性をもつが, 大腸菌とは異なり, メチル化剤に対する適応応答を示さない。昨年度, 我々は, 本酵素の遺伝子 (ada_{ST}) を S. typhimurium からクローニングし, その塩基配列を決定するとともに, 遺伝子産物を同定したことを発表した。今年度は, ada_{ST} 遺伝子を特異的に欠損した TA1535 株を作成し, その性質を調べたので報告する。まず, クローニングした S. typhimurium の染色体 (5.5kb) 上にある ada_{ST} 遺伝子を含む領域 (1.6kb) と kanamycin 耐性 (K_m^R) 遺伝子 (1.4kb) を置換し, プラスミド pYG7510 を作成した。次に, 複製起点を除去した K_m^R 遺伝子を含む断片を, T4 DNA ligase で処理後, TA1535 に電気的に導入し, 相同的組換えにより K_m^R となつた株を得た。この株には pYG7510 由来のプラスミドは含まれておらず, サザンプロットティング法により染色体上の ada_{ST} 遺伝子が K_m^R 遺伝子と置換していることを確認した。得られた ada_{ST} 遺伝子欠損株の性質を調べたところ, 親株に比べ MNNG に対する致死感受性は増大していたが, 変異誘発に関する感受性には差がなかった。これは, S. typhimurium の場合には ada_{ST} 遺伝子産物よりも, もう一つの MTase である ogt 遺伝子産物が, 主に 0⁶-メチルグアニンの修復を行っているためと考えられる。現在 ada_{ST}-ogt 二重欠損株作成のため, ogt 遺伝子のクローニングを行っている。

§ 現エーザイ株式会社

P-100

In vivo-in vitro ラット肝RDS(複製DNA合成)試験を用いる芳香族アミンのがん原性の検討

○高沢博修¹, 宇野芳文¹, 宮川誠², 井上由起¹, 村田妙子¹, 吉川邦衛¹ (1)三菱化成総研・安全性研, (2)株三菱化成安全科学研)

【目的】芳香族アミンの多くは Ames 試験で陽性結果を示すが, それの中には, がん原性を誘発しないものが多数含まれる。これらの変異原性とがん原性との差がいかなる理由に基づくものかを検索する目的で, Ames 試験で陽性結果を示す芳香族アミンを使用し, in vivo-in vitro ラット肝RDS(複製DNA合成)試験を実施した。

【被験物質】以下の10検体を使用した。

肝がん原性物質 5 検体

4-chloro-1,2-phenylenediamine,
2,4-diaminotoluene,
2-methoxy-5-methylaniline,
2-methoxy-5-nitroaniline,
2,4,5-trimethylaniline

非がん原性物質 5 検体

2,5-diaminotoluene・H₂SO₄,
2,6-diaminotoluene,
2,4-dimethoxyaniline,
4-nitroanthranilic acid,
p-phenylenediamine・2HCl

【方法】9 週齢の雄性 F344 ラットに被験物質の最大耐量 (MTD) および 1/2 MTD を単回強制経口投与し, 投与後 24~48 時間で肝RDS の誘発を観察した。2.0% 以上の RDS 誘発率を示したときを陽性 (肝RDS 誘発能を有する), また 1.0% 未満のときを陰性と判定した。

【結果と考察】肝がん原性物質のうち, 4-chloro-1,2-phenylenediamine を除く 4 検体が陽性結果を示した。また, 非がん原性物質は, 2,4-dimethoxyaniline を除く 4 検体が陰性結果を示した。以上の結果から, Ames 試験陽性の芳香族アミンのうち, 肝がん原性物質の多くは肝RDS を誘発し, 非がん原性物質の多くは誘発しないことが判明した。すなわち, 芳香族アミンの肝がん原性の誘発には発がんイニシエーション作用のみならず, 発がんプロモーション作用が強く関与していることが示唆された。

P-101

MTX の小核誘発性と nuclease 活性

○笠原義典, 中井康晴, 三浦大志郎, 八木君枝, 蒔田徳太郎 (帝人医研第 2 研)

昨年の本学会で, methotrexate (MTX) の小核誘発性における連投効果は, MTX とマウス骨髄細胞中の dihydrofolate reductase (DHFR) との結合度の差によることを報告した。DHFR の持続的な阻害は、細胞内の deoxyribonucleotide (dNTP) の imbalance を生じ、修復 DNA 合成が阻害されることにより小核が誘発されるものと考えられる。一方 dNTP の imbalance は細胞内の nuclease を活性化するという報告もある (A. Yoshioka, 1984)

今回, MTX の連投によるマウス骨髄細胞核内 nuclease 活性の変動を調べたので報告する。また現在アルカリ溶出法による A Psite の生成についても検討中であるので合わせて報告したい。

【方法】

CD-1 マウス (♂) 7 週令に, MTX (4mg/kg) を単回投与あるいは 4 回投与し、投与後 3 時間の骨髄細胞を採取した。核画分の 0.3M NaCl 抽出液中の nuclease 活性を仔牛胸腺 DNA を基質として測定した。

【結果】

MTX を単回投与すると nuclease 活性はコントロールの 2 倍に増大していたが、4 回投与では 1.5 倍にしか増大していなかった。

【考察】

MTX の小核誘発性に nuclease 活性が関与している可能性はあるものの、投与回数との関連性は少ないと考えられる。

P-102

一アミノ酸残基を置換した DNA ポリメラーゼ β による in vitro DNA 合成エラー

○Magdy Mohamed¹, 谷田貝文夫¹, 松影昭夫², 伊達孝保³, 花岡文雄¹ (1)理研細胞生理, (2)愛知がんセ・研・生物, (3)金沢医大生化)

DNA ポリメラーゼ β は DNA 修復への関与も示唆され注目を浴びているが、ここでは野生型 β とプライマー認識に重要な Arg183 あるいはその隣接の Arg182 を Gln 残基に置換した変異型 RQ182 と RQ183 を用いて、in vitro DNA 合成中に生ずるエラーの特異性を比較検討した。M13mp2 一本鎖 DNA を錆型として in vitro で合成した RF 分子を大腸菌 S90C (recA) 株と BMH71-18 (mutS) 株に導入後 lacZα 遺伝子に変異をもつファージを選択し Dideoxy 法によってその変異を同定した。驚くべきことに、野生型 β と 2 種の変異型 β を用いた場合で変異誘発の頻度に差はみられなかった。ただし、予測どおりに、ミスマッチ修復機能を欠損した mutS 株では誘発頻度は 8×10^{-3} となり recA 株での 1.5×10^{-3} に比べて 5-6 倍高い値を示した。一塩基置換による DNA 合成エラーへの影響は以下に述べるように recA 株の場合に顕著になった。部位 132-136 と 166-168 の 5 及び 3 連続 C 配列で C 塩基が付加される (+C 型) 変異が野生型 β では認められなかった (0/56) が、RQ182 (3/41) と RQ183 (7/46) で高頻度に誘発された。反対に野生型 β で高頻度の G-T (部位 82, 149 で 3/56, 4/56) は変異型 β では回収されなかつた。このような相違が特定アミノ酸置換に特有なものか、DNA 合成速度低下など間接的効果によるものか検討をすすめている。

P-103

モノ、ジ、トリニトロナフタレン類の変異原性とニトロ還元性

○大森清美¹、福原 潔²、岩田修永³、堀口佳哉¹、渡辺重信¹、高橋 悅³、宮田直樹²
(¹神奈川県衛研、²国立衛試、³有機化学、³代謝生化学)

我々は、昨年度の本大会において、ジニトロピレンおよびジニトロベンツ [a] ピレンのTA 9 8 N Rでの変異原性の強さと、ニトロ基の化学的な還元特性との相関について報告した。本年度は多環芳香族ニトロ化合物の中で最も基本的な化合物である、モノ、ジ、およびトリニトロナフタレンについて変異原活性と還元性を検討した。

モノ (1-、2-)、ジ (1,3-、1,5-、1,7-、1,8-) およびトリ (1,3,5-、1,3,8-) ニトロナフタレンの変異原性を TA 9 8、TA 9 8 N R (ニトロ還元酵素欠損株) および Y G 1 0 2 1 (ニトロ還元酵素高産生株) で調べた。その結果、ニトロ基が α 位に位置する場合や複数のニトロ基が共鳴構造をとる場合にニトロ還元酵素依存性が高いことが明らかとなった。ニトロナフタレン類の還元性は、菌体の細胞質画分と NAD(P)H を用い、サクシニル化したチトクローム C の還元速度から求めた。その結果、 α 位のみにニトロ基を有するナフタレン (1-、1,5-、1,8-) の Y G 1 0 2 1 での変異原性の増強は、NADH を補酵素とする還元速度の増大と対応していることが示された。酵素による還元と電気化学的な還元特性との相関についても報告する。

P-104

タンパク質およびその消化物の亜硝酸スカベンジャー効果と変異原効果

○加藤哲太、菊川清見 (東京薬大)

亜硝酸は胃内の酸性条件下、発癌性ニトロソアミン (NA) やジアゾキノン (DQ) 類などの直接変異原物質を生成することが知られている。今回、摂食量の多いタンパク質およびその消化物 (通常の食事での胃内のタンパク質濃度: ~50 mg/ml) について、発癌性、変異原性物質の生成に及ぼす影響を検討した。 [実験、結果] 50 mM NaNO₂ の酸性溶液 (pH 3) に各種アミノ酸 (100 mM)、アルブミンおよびカゼインのトリプシン分解物 (NZ-Case) (100 mg/ml) を添加し、37°、1 h インキュベーションした結果、いずれにおいても亜硝酸の消費が認められた。亜硝酸の消費は、すべてのアミノ酸について窒素ガスの生成をともなう脱アミノ化反応、Pro から変異原活性のない NO-Pro、Cys から NO-Cys、Trp から弱変異原活性をもつ NO-Trp および Tyr から変異原活性のないジアゾ Tyr の生成反応によると考えられる。タンパク質では、Tyr、Lys 残基の反応によると考えられるクロスリンクの生成も認められた。NA 生成反応 (50 mM NaNO₂、200 mM ジメチルアミン、pH 3、37°、5 h) に対してアミノ酸はすべて阻害効果を示し、アルブミンは 50% 阻害、NZ-Case は 90% 以上の阻害効果を示した。DQ 生成反応 (100 mM NaNO₂、25 mM phenol、pH 3、37°、4 h) に対して低濃度の Cys 以外のアミノ酸はすべて阻害効果を示し、アルブミンは 80% 阻害、NZ-Case は 95% の阻害効果を示した。バメタンの亜硝酸処理で生じるバメタン DQ による直接変異原性の生成は NZ-Case により濃度依存的に阻害された。 [考察] 通常の食事における摂取量のタンパク質およびその消化物は、胃内の条件下で NA および DQ 生成を効率よく阻害し、有効な亜硝酸スカベンジャーすなわち変異原物質として機能していることがわかった。

P-105

松かさ抽出物の抗変異原性について

○青木公子¹、李惠淑²、坂上宏³、吉田武美¹、黒岩幸雄¹ (¹ 昭大薬、² 韓国化学研、³ 昭大医)

抗腫瘍、抗ウイルス、免疫増強等の作用を有するリグニン様物質である松かさ抽出物 (Pine cone extract Fr. VI; PC) の変異原に対する影響を検討した。サルモネラ TA98 及び TA100 株を用いてアレインキュベーション法による変異原性試験を行ったところ、プレートあたり 1500 μ g の PC 添加においても PC 自体には変異原性及び殺菌作用はないこと、また直接変異原である AF-2 と MNNG の変異原性には影響を与えず、S9 mix を必要とする Promutagen である BP (ベンゾ [a] ピレン) と AA (2-アミノスチレン) の変異原性を抑制することが明かとなった。この抗変異原性作用機序解明のため 1) S9 mix への作用、2) Promutagen とその活性代謝産物への作用、3) DNA 損傷変異菌に対する作用について検討した。

[方法と結果] 1) β -ナフトラボンとフェノールビタール誘導ラット肝ミクロソーム物代謝酵素を PC 共存下で測定したところ、NADPH-チトクロム C 還元酵素、アミノ酸水酸化酵素、アミルリン脱メチル化酵素活性の低下とチクロ-AP-450 含量の低下が観察された。2) AA と PC を一定時間共存後に酢酸イカルボニルで抽出した AA をガスクロマトグラフィーで測定したところ AA 含量の低下がみられた。AAF (2-アセチルアミノフロレン) の活性代謝物である N-水酸化 AAF、AA 及び BP の S9 mix による活性代謝物の変異原性 (Ames 試験) は PC 添加により低下した。3) BP または AA による DNA 損傷変異菌の変異原性発現に PC は影響を与えたなかった。

以上のことから PC は肝ミクロソーム物代謝系への阻害作用と desmutagen の作用により抗変異原性を示すと考えられた。

P-106

エピガロカテキンガレート (EGCG) の変異原性抑制作用について

○根岸友恵¹、阪田 功²、早津彦哉¹ (¹ 岡山大・薬、² 東洋薄荷)

緑茶のポリフェノール成分であるエピガロカテキンガレート (EGCG) には、抗腫瘍性や抗発癌プロモーター活性があることが知られている。また我々は、Ames test を用いた変異原性試験によって Trp-P-2 などの変異原性を抑制する効果があることを本年度の日本薬学会で報告した。

今回、ショウジョウバエを用いて経口的に同時に摂取した変異原に対する EGCG の効果を調べた。変異原性の検出には翅毛スポットテストを、DNA 傷害作用の検出には、in vivo DNA repair test を用いた。EGCG 200 mg の添加によって 4 N Q O : 4.8 mg, Trp-P-1 : 2.7 mg, ニトロソジメチルアミン : 0.15 mg の変異原性は、それぞれ 35%, 50%, 60% に抑えられたが、アフラトキシン B₁ やジメチルベンツアントラセンの変異原性に対しては、抑制効果は見られなかった。In vivo DNA repair test においても、Trp-P-1 や 4 N Q O の活性に対しては、著しい抑制効果を示したが Me-IQx や I Q に対しては顕著な効果は見られなかった。Ames test などを用いた研究結果と合わせてこの抑制機構を考えると、吸収の阻害、変異原物質活性化の抑制、活性化体との反応などの可能性がある。

EGCG は日本人が日常的に摂取している緑茶のなかに多量に含まれており、種々の変異原物質の活性を抑えることを示したこの結果は、EGCG が食事による発癌のリスクを下げる一因となる可能性を示すものと考えられる。

P-107

緑茶エピガロカテキンガレートの亜硝酸捕捉作用

早津彦哉、○早津聰子（岡山大・薬）

一般にポリフェノール類には亜硝酸捕捉作用があり、アミンと亜硝酸塩との酸性下でのニトロサミン生成を阻害することが知られている。今回、緑茶のポリフェノールの主成分である(-)epigallocatechin gallate (EGCG)について、その亜硝酸捕捉能をアスコルビン酸のそれと比較したところ、EGCGの方が強いことがわかった。さらに米ぬかの亜硝酸処理で変異原が生成する反応をEGCGが効率よく阻害することも明らかとなった。

【方法】クエン酸緩衝液でpHを固定し、亜硝酸 1 mM に対してEGCGまたはアスコルビン酸の等モルまたはそれ以下の量を加え、20分後の亜硝酸量を測定した。対照として亜硝酸のみの液を用いた。また、米ぬか 5 gを亜硝酸塩 50 mM, pH 3, 37°C, 1 hr処理した。その際EGCGまたはアスコルビン酸を25 mM 加える処理を行なった。反応後、既報のようにブルーレーヨン抽出物を作り、サルモネラ菌 TA100, -S9で変異原性を測定した。

【結果】EGCGはアスコルビン酸に比べてより強い亜硝酸との反応性を pH 2, pH 3, pH 4において示した。特に、亜硝酸の1/2当量でも有効である点がアスコルビン酸より優れていた。ぬかの亜硝酸処理の際、亜硝酸の1/2モル分のEGCGを共存させると変異原の生成は 100 %抑制されたのに対して、アスコルビン酸共存では80%の抑制であった。米飯と亜硝酸とで変異原性が現れるのを緑茶が効率よく抑えると予想される。

P-108

ビタミンB₆類のin vitroおよびin vivo 抗突然変異作用

○赤岩江里子、鈴木菜穂、下位香代子、佐野満昭、中村好志、富田 熱（静岡県立大・薬）

種々のビタミン類について、*E.coli* B/r WP2を用いてUV誘発突然変異を指標にして、突然変異抑制作用を調べたところ、B₆のうち、ピリドキサール(PL)およびピリドキサール-5-リン酸(PLP)に突然変異抑制効果が認められたので、その作用機構を検討するとともに、in vivo における効果についても小核試験を行い検討した。PLは、4NQO誘発突然変異に対しては、UVと同様に抑制作用を示したが、MNNGやγ線誘発突然変異に対しては、全く抑制作用を示さなかった。また、DNA除去修復欠損株(WP2suvra)では抑制効果が認められず、細胞増殖の遅延も見られなかったことから、PLがDNA除去修復を促進することが示唆された。

一方、ICRマウス（雄、7~8w）におけるMMC誘発小核出現頻度について検討したところ、PLPはMMCと同時あるいは、MMC投与7.5時間後、いずれの場合も経口投与により有意に (p<0.001) 低下させ、しかも用量依存的な抑制効果を示した。しかし、アルキル化剤であるシクロフオスファミド(CP)やメチルニトロソウレア(MNU)に対しては効果を示さず、上記の*E.coli*における結果と一致し、同様の作用機構が、in vivo においても考えられた。

P-109

放線菌の生産する抗変異原物質

○山田哲郎¹、大澤俊彦、川岸舜朗、鵜高重三、大田敏博²（名大農、¹現在フジパン、²残留農薬研）

目的 放線菌代謝産物を対象に検索を進め、高分子性ペプチドタイプの抗変異原物質の単離に成功しているが、今回、新たに低分子性ペプチドタイプの抗変異原物質の存在を見い出したので、抗変異原性発現機構を解明することを本研究の目的とした。

方法及び結果 293 株の放線菌のうち、最も抗変異原活性の強かった*Streptomyces* SP AJ 9455株の代謝物について検索した結果、高分子透過性検定菌にのみ活性を示す 14種類のアミノ酸を含む分子量 7-10kdのペプチド性抗変異原物質と共に、今回、新たに N-methyl-valyl-amiclenomycin と推定される抗変異原物質を得ることができた。特に後者は、*E.coli* WP2s 株 (recA⁻) を用いた試験においてUV、4NQO、AF-2 の他 アルキル化剤である MNNGにより誘発された変異原性に対して強い抑制作用を示した。さらに SOS Chromotest を用いた抗変異原試験においても強い活性を示し、*E. coli* ZA-51株 (umuC⁻) においては復帰突然変異コロニー数とともに生存菌数の減少も認められたことから、DNA 修復において多機能な RecA 蛋白に何らかの作用を及ぼして活性を発現しているものと推定された。

P-110

ラット末梢血を用いる臭素酸カリウムの小核試験～抗酸化剤による影響～

○佐井君江¹、林 真²、高木篤也¹、長谷川隆一¹、祖父尼俊雄²、黒川雄二¹（国立衛試・¹毒性、²変異遺伝）

酸化剤である臭素酸カリウム(KBrO₃)は、in vitro染色体異常及びマウスin vivo小核誘発能を有するラット腎発がん剤である。KBrO₃による発がん過程には活性酸素種による酸化的DNA傷害の関与が示唆されており、その傷害に対する抗酸化剤の抑制効果が認められている。そこで本実験では、KBrO₃による小核誘発能に対し、種々の抗酸化剤による効果を、著者らの開発した末梢血を用いる小核試験法 (Mutat. Res. (1990) 245:245-249)により検討した。

【方法】1) ラット(F344, ♂, 6週齢)にKBrO₃を 40, 60及び80mg/kg単回腹腔内投与し、0, 32, 48及び56時間後に尾部より5ul採血し、アクリジンオレンジによる超生体染色後、蛍光顕微鏡で小核の出現頻度を測定した。2) 同様のラットをグルタチオン(800mg/kg, 腹腔内2回)、システイン(400mg/kg, 腹腔内2回)、vitamin C (200mg/kg, 経口5回)及びSOD封入りポソーム(L-SOD)(18000U/kg, 腹腔内2回)で処置し、KBrO₃(60mg/kg)単回腹腔内投与32時間後的小核出現頻度を同様に求めた。

【結果】1) KBrO₃による小核の誘発は、60mg/kg投与32時間後に最高値となった。2) KBrO₃ (60mg/kg)投与による小核出現頻度は、グルタチオン、システイン及びvitamin Cの処置により有意に抑制された。一方、L-SODによる影響は認められなかった。以上のKBrO₃による小核誘発能に対する抗酸化剤の効果は、腎における酸化的DNA傷害 (8-hydroxydeoxyguanosineの生成)に対する作用とよく一致した。

P-111

染毛剤原料m-phenylenediamineの酸化時に生成する変異原物質に対するaniline及びphenol化合物の影響

○渡辺徹志, 楠本雅典, 平山晃久
(京都薬大)

我々は染毛剤原料m-phenylenediamine (PD)のH₂O₂処理によりMeIQと同程度の変異原活性を有する2,7-diaminophenazine (diNH₂-Pz, TA98 730 rev./ng)が生成することを明らかにした。また市販染毛剤中, m-PDを成分として含む製品から2,7-diNH₂-Pzを検出した。今回, m-PDのH₂O₂処理に対する他の染毛剤原料の影響を調べるために、m-PDとp-PD並びにm-PDとphenol類を混合してH₂O₂処理し、処理物の変異原性及び2,7-diNH₂-Pz生成に対するこれら化合物の影響について検討した。まずphenol類8種を単独にH₂O₂処理し、その変異原性をS. *typhimurium* TA 98を用いて試験した。いずれのphenol類もH₂O₂処理前では変異原性を示さずm-aminophenol(AP)でH₂O₂処理による顕著な変異原性の上昇が認められた。m-PDとp-PDの等モル混合物をH₂O₂処理することにより、変異原物質として2,7-diNH₂-Pzと共にm-PDとp-PDが縮合して生成したと考えられる2,8-diNH₂-Pzを検出した。m-PDのH₂O₂処理に対するp-PD及びphenol類の影響について検討した結果、いずれの化合物もm-PD H₂O₂処理時の変異原性及びm-PDからの2,7-diNH₂-Pzの生成を抑制した。しかし、p-APやresorcinol混合時のように2,7-diNH₂-Pz以外の変異原物質が生成する可能性を示唆する結果も得られたことから、現在、硫酸第一鉄及びポルフィリン系化合物を共存させることによる効果についても検討中である。

P-112

TPAの発癌プロモート作用に対する香料成分等の抑制

○佐々木有、山田弘、坂口正之 (ファイザー製薬)

今日までに、数多くの変異原性を抑制する物質が微生物や培養細胞を用いて分離されている。その中でも、佐々木らはバニリンなどの香料成分がDNA再結合の過程を修飾し、結果として染色体異常の誘発を抑制することを報告してきた。発癌過程はイニシエートとプロモートの2段階に分けられるが、変異原性の抑制とはイニシエートの抑制であると考えることができる。今回、変異原性抑制作用が報告された香料成分等およびその類似物質がTPAのプロモート作用を抑制するか、スクリーニングを試みたので、その結果について報告する。

本実験では、プロモーターを検出する系の中から、代謝協同阻害の系を用いた。V79-6TG^r細胞とV79-6TG^s細胞を混合培養し、TPA、被験物質、6TGで4日間処理した。さらに6TG存在下で3日間の培養後、生き残った6TG^r細胞のコロニー数を計測した。その結果、香料として汎用されるクマリンおよびその類似化合物にTPAの代謝協同阻害に対する抑制作用が認められた。

代謝協同の抑制と発癌プロモーションとの結びつきについては、未だ異論があるところではある。しかし、本実験の結果、変異原性抑制作用が報告されている物質の中にはプロモートをも抑制する可能性があることが示された意義は大きいと考えられる。代謝協同阻害に対する香料成分等の抑制作用が、発癌プロモートに対する真の抑制作用なのか、系を変えて検討する予定である。

P-113

MNU のマウス胎児毒性における O⁶-methylguanine (MG)前処理による増強効果

○松田 洋、濫谷 徹
(食品薬品安全センター秦野研究所)

アルキル化剤の多くは、変異原性、癌原性および催奇形性を有する。突然変異誘発および発がんでは、DNA のguanine のO⁶位のアルキル化が重要であると言われているが、催奇形性の機序については明らかではない。我々は、これまでに、MG単独またはMGとENUとの併用によるマウス胎児に対する影響を調べてきた。今回は、MGとMNUとの併用によるマウスの催奇形作用について調べたので報告する。

C3H/Heマウスの妊娠8または10日にMNU 2あるいは4 mg/kg を単独、またはMG 110 mg/kg を2回腹腔内投与した後、MNU を腹腔内投与(同日、1時間間隔)した。その結果、MGとMNU 併用群において、MNU 単独群と比較して、胎児体重の減少(妊娠8,10日)、外表奇形および水頭症の出現頻度の増加(妊娠10日)、頸動脈の出現頻度の減少(妊娠8,10日)および腰肋の出現頻度の増加(妊娠8日)等が認められ、MGを前処理することによりMNU の催奇形作用が増強された。

これらの結果は、修復酵素O⁶-alkylguanine-DNA transferase (AGT) の基質の一つであるMGの前処理により、AGT活性が低下したためと考えられた。AGTは、DNAのguanineのO⁶位のアルキル化を特異的に修復する酵素であることから、アルキル化剤によるマウス胎児の催奇形作用においてDNAのO⁶のアルキル化が重要であることが示唆された。

P-114

二酸化窒素暴露下に多環芳香族炭化水素を投与した実験動物尿中の変異原性

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

化石燃料の使用増や自動車排ガスの増加に伴って環境中の多環芳香族炭化水素(PAH)やNO₂ガス濃度が増加している。環境中ではPAHとNO₂ガスとの反応でニトロ化が起こり強変異原物質が生成することが知られている。本実験では生体内でもNO₂暴露によってニトロ化PAHが生じるのかどうかについて検討した。

5週令のICRマウスを空気またはNO₂ガス(20 ppm)で24時間暴露後、400 mg/kg のPAH(ビレン、フルオランテン、フルオレン、アントラセンまたはクリセン)を腹腔内に投与し、それぞれ空気またはNO₂ガス下に24時間尿を採取した。尿は除菌後、β-glucuronidaseとarylsulfataseで処理し、ジクロルメタンで抽出後、抽出物についてAmesテストで変異原性を測定した。空気暴露下でPAHを投与したマウス尿の変異原性はほとんどなかったがNO₂暴露下での尿には強い変異原性(特にビレンとフルオランテン)が観察された。この変異原性はTA98NR株ではTA98株に比べて著しく減少した。ビレン投与尿の代謝産物を分析するとニトロビレンの代謝産物が検出され、生体内でのニトロ化が示された。各種動物で同様の実験を行うと、尿中変異原の生成には種差がみられ(ハムスター>マウス>>ラット>モルモット)、呼吸量に比例していた。ヒトの呼吸量はマウスの約1/10であることから、ヒトの場合でも高濃度のNO₂ガスに暴露されると生体内でニトロ化反応が起こることが考えられる。

P-115

過酸化水素共存下でのメチルグリオキサールによる核酸塩基の修飾

○多田明弘¹、穂谷東雄¹、辻 邦郎¹、諫訪芳秀²、若林敬二³、長尾美奈子³、杉村 隆³

(¹静岡県立大・薬、²サントリー基礎研、

³国立がんセンター研)

メチルグリオキサール(MG)は食品中に含まれる塩基置換型の直接変異原物質であり、その変異原性は過酸化水素(H₂O₂)の共存によって増強される。また、両者の共存する系において、2'-デオキシグアノシンは2位のアミノ基がアセチル化される。このアセチル化が上記の変異原性の増強と関係した化学修飾であることが予想される。そこで、MG+H₂O₂がDNA中のグアニンのアミノ基に対しても同じ化学修飾をするか否かを³²P-ポストラベル法を用いて検討した。従来より行われている方法では、グアニンのN²位がアセチル化されたヌクレオチドと正常ヌクレオチドとを分離精製することは困難である。そこで、HPLC法による精製を組合せることにより、この修飾ヌクレオチドを検出することにした。まず、分析に必要な標準化合物N²-アセチル-2'-デオキシグアノシン、その3'-リン酸および3',5'-ジリン酸を合成した。次に、3'-リン酸化合物を³²P-ポストラベル化すると3',5'-ジリン酸化合物に変換することが明らかになった。現在、in vitroでMG+H₂O₂処理したDNA中のN²-アセチル-2'-デオキシグアノシンの生成の有無を分析しているが、その結果についても言及する。

P-116

水道水中の強力な変異原物質MXの安定性

○杉山千歳、後藤和弥、徳本清乃、古郡三千代、木苗直秀(静岡県立大学・食品栄養科学)

塩素処理した水道水中に含まれる3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone(MX)は高い変異活性と染色体異常誘発能を有する。さらに、最近MXが胃粘膜に対して遺伝子毒性と細胞増殖作用を有することが明かになった。ヒトは飲用または調理用として毎日10Lの水道水を消費しているという。

そこで、pH、温度などの物理的条件を変化させた場合、および唾液、血清と混合した場合のMXの安定性について経時的に調べた。

Padmapriyaらの方法により合成したMXをpH3, 5, 7, 9, 11, 12の緩衝液に溶解し、25°Cに静置した。また、MXを水に溶解し、4°C, 25°C, 50°C, 100°Cに保持した。MXをヒトの唾液、血清およびラット肝S9とそれぞれ37°Cで5分間接触させた。別にMXをpH4で亜硝酸ナトリウムと37°Cで1時間反応させた。各反応液を酸性で酢酸エチルで抽出した後、高速液体クロマト法とS.typhimurium TA100を用いる変異原性試験によりMX量の変化を測定した。

その結果、MXはpH3で48時間後も安定であったが、pH12では24時間後に完全に消失した。また、4-25°Cでは48時間後も安定であり、50°Cでは1時間後に35%が、48時間後には80%が消失した。沸騰水中では15分後に75%, 30分後に100%が消失した。一方、MXはヒト唾液では変化が認められなかつたが、血清では完全に消失した。ラットS9および亜硝酸処理によってもMXの活性が消失した。

P-117

2, 4-Dinitrobiphenyl誘導体の変異原性代謝物の構造

○平山晃久、井口和彦、渡辺徹志(京都薬大)

【目的】Nitroarene類はS. *typhimurium*を用いるAmes法においてdirect mutagenであることはよく知られている。しかし、著者らは2, 4-dinitrobiphenyl誘導体5種がS9 mix添加した代謝活性化系において、その変異原性が上昇する知見を得ている。そこで、これら代謝活性化により変異原性の上昇した化合物のうち、S9 mix処理により変異原性代謝物を含むと推定できた2, 4, 6-trinitro-Bp(TNBp)並びに2, 4, 2', 4'-tetrinitro-Bp(TNBp*)の代謝物中の主要変異原物質の構造研究を行ったところ興味深い結果が得られたので報告する。

【実験方法】試料を10% S9を含むS9 mix

と48h incubateし、反応後、AcOEtで抽出した。抽出物はTA98(-S9)での変異原性を指標にSiO₂またはAluminaを用いたカラムクロマトグラフィーで精製した。

【結果と考察】31 rev./100μgと変異原性の弱い2, 4, 6-TNBpをS9 mixとincubateしたAcOEt抽出物をSiO₂カラムで分画したところ、100μg当たり268個のrev.を与える画分を得た。更にこの画分を精製して、TA98(-S9)に対し100μg当たり41 rev.の化合物Iと157 rev.のIIを得た。これら化合物の構造は、脱アミノ化体の構造から4-NH₂-2, 6-diNO₂-Bp(I)及び2, 4-di-NH₂-6-NO₂-Bpと決定した。また、2, 4, 6-TNBpのS9添加時の変異原性は代謝物で説明できなかった。2, 4, 2', 4'-TNBp*の代謝活性化体の構造は2, 4'-diNH₂-2', 4-diNO₂-Bpと決定でき、25460 rev./nmolの変異原性を有し、2, 4, 2', 4'-TNBp*のS9添加時の変異原性の総てを説明できた。

P-118

ヒドラゾンの自動酸化生成物による突然変異原性発現とその機構

○道廣幸三、出本有紀、塩見佳津子、望月正隆(共立薬大)

【目的】各種ヒドラゾンのうち、フェニルヒドラゾン類は酸素で自動酸化されてヒドロペルオキシドを生成することが知られている。そこでアルキルヒドラゾン類について自動酸化と、生成したヒドロペルオキシドの変異原性に及ぼす構造の効果を検討した。

【実験】自動酸化を起こしうるアルキルヒドラゾン類の構造を検討した。メチルヒドラジンまたは1, 1-ジメチルヒドラジンをアセトアルデヒドまたはアセトンと反応させて得た4種のヒドラゾンのうち、アセトンメチルヒドラゾンのみがヒドロペルオキシドに変換された。また、生成したヒドロペルオキシドはサルモネラTA100とTA102に対して直接的な変異原性を示した。次いでアルキルヒドラジン(メチル、エチル、プロピル、ブチル)とアセトンから生成する4種のヒドラゾンについて自動酸化を検討したところ、いずれもヒドロペルオキシドを生じた。これらのヒドロペルオキシドの変異原活性はアルキル基の種類によって異なり、メチル体ではサルモネラTA1535に強く、エチル、プロピル、ブチル体では大腸菌WP2 h c r⁻に強かった。これらの変異原性発現の機構を検討するためにヒドロペルオキシドの分解反応とその生成物を検出し、さらにアルキル化能を測定して変異原性との関連を比較した。

【結論】アルキルヒドラゾンの自動酸化により生成したヒドロペルオキシドは、アルキル基の構造に依存した変異原活性を発現した。

○真鍋 芳樹、朝倉 正登、後藤 敦、
實成 文彦 (香川医大 衛生・公衆衛生)

1-Nitro-3-acetoxypyrene (1,3-NAcOP) の変異原性は、1-nitropyrene(1-NP) の約32倍であり、大気中粒子の変異原性に対する寄与率も1-NPより高いことを明らかにしてきた。

今回、1,3-NAcOP の生体内運命の基礎的知見を得るため、in vitro で S9 mix による代謝及び nitroreductase を用いた DNA 付加体について検討した。

1) 1,3-NAcOP の S9 mix による代謝

1,3-NAcOP を、Ames 法で用いるのと同組成に調製した S9 mix で 37°C、2 時間処理後、chloroform:isoamlyalcohol:phenol で抽出、溶媒溜去後試料とし、HPLC により分析した。溶出時間および質量分析の結果、主たる生成物は 1-nitro-3-hydroxypyrene であった。この 1-nitro-3-hydroxypyrene は、1-NP の S9 mix 処理後生成物および実験動物投与後生体内代謝産物でもある。

2) Nitroreductase を用いた DNA 付加体

1,3-NAcOP は TA98NR, TA98/1,8-DNP₆ で変異原性が抑制されることから、ニトロ基の還元が変異原性の発現に関与していると思われる。そこで、1,3-NAcOP を in vitro で hypoxanthine 及び xanthine oxidase, catalase の存在下で fish sperm DNA と incubate 後、HPLC で分析すると 2 種の DNA 付加体と思われるピークが認められた。それらのピークを GC-MS で分析すると、1 つは deoxyadenosine と 1-amino-3-acetoxypyrene の複合体であった。

索引・謝辞

- 赤堀 伸一 P-102
赤堀 伸一 P-103
赤堀 伸一 P-104
赤堀 伸一 P-105
赤堀 伸一 P-106
赤堀 伸一 P-107
赤堀 伸一 P-108
赤堀 伸一 P-109
赤堀 伸一 P-110
赤堀 伸一 P-111
赤堀 伸一 P-112
赤堀 伸一 P-113
赤堀 伸一 P-114
赤堀 伸一 P-115
赤堀 伸一 P-116
赤堀 伸一 P-117
赤堀 伸一 P-118
赤堀 伸一 P-119
赤堀 伸一 P-120
赤堀 伸一 P-121
赤堀 伸一 P-122
赤堀 伸一 P-123
赤堀 伸一 P-124
赤堀 伸一 P-125
赤堀 伸一 P-126
赤堀 伸一 P-127
赤堀 伸一 P-128
赤堀 伸一 P-129
赤堀 伸一 P-130
赤堀 伸一 P-131
赤堀 伸一 P-132
赤堀 伸一 P-133
赤堀 伸一 P-134
赤堀 伸一 P-135
赤堀 伸一 P-136
赤堀 伸一 P-137
赤堀 伸一 P-138
赤堀 伸一 P-139
赤堀 伸一 P-140
赤堀 伸一 P-141
赤堀 伸一 P-142
赤堀 伸一 P-143
赤堀 伸一 P-144
赤堀 伸一 P-145
赤堀 伸一 P-146
赤堀 伸一 P-147
赤堀 伸一 P-148
赤堀 伸一 P-149
赤堀 伸一 P-150
赤堀 伸一 P-151
赤堀 伸一 P-152
赤堀 伸一 P-153
赤堀 伸一 P-154
赤堀 伸一 P-155
赤堀 伸一 P-156
赤堀 伸一 P-157
赤堀 伸一 P-158
赤堀 伸一 P-159
赤堀 伸一 P-160
赤堀 伸一 P-161
赤堀 伸一 P-162
赤堀 伸一 P-163
赤堀 伸一 P-164
赤堀 伸一 P-165
赤堀 伸一 P-166
赤堀 伸一 P-167
赤堀 伸一 P-168
赤堀 伸一 P-169
赤堀 伸一 P-170
赤堀 伸一 P-171
赤堀 伸一 P-172
赤堀 伸一 P-173
赤堀 伸一 P-174
赤堀 伸一 P-175
赤堀 伸一 P-176
赤堀 伸一 P-177
赤堀 伸一 P-178
赤堀 伸一 P-179
赤堀 伸一 P-180
赤堀 伸一 P-181
赤堀 伸一 P-182
赤堀 伸一 P-183
赤堀 伸一 P-184
赤堀 伸一 P-185
赤堀 伸一 P-186
赤堀 伸一 P-187
赤堀 伸一 P-188
赤堀 伸一 P-189
赤堀 伸一 P-190
赤堀 伸一 P-191
赤堀 伸一 P-192
赤堀 伸一 P-193
赤堀 伸一 P-194
赤堀 伸一 P-195
赤堀 伸一 P-196
赤堀 伸一 P-197
赤堀 伸一 P-198
赤堀 伸一 P-199
赤堀 伸一 P-200
赤堀 伸一 P-201
赤堀 伸一 P-202
赤堀 伸一 P-203
赤堀 伸一 P-204
赤堀 伸一 P-205
赤堀 伸一 P-206
赤堀 伸一 P-207
赤堀 伸一 P-208
赤堀 伸一 P-209
赤堀 伸一 P-210
赤堀 伸一 P-211
赤堀 伸一 P-212
赤堀 伸一 P-213
赤堀 伸一 P-214
赤堀 伸一 P-215
赤堀 伸一 P-216
赤堀 伸一 P-217
赤堀 伸一 P-218
赤堀 伸一 P-219
赤堀 伸一 P-220
赤堀 伸一 P-221
赤堀 伸一 P-222
赤堀 伸一 P-223
赤堀 伸一 P-224
赤堀 伸一 P-225
赤堀 伸一 P-226
赤堀 伸一 P-227
赤堀 伸一 P-228
赤堀 伸一 P-229
赤堀 伸一 P-230
赤堀 伸一 P-231
赤堀 伸一 P-232
赤堀 伸一 P-233
赤堀 伸一 P-234
赤堀 伸一 P-235
赤堀 伸一 P-236
赤堀 伸一 P-237
赤堀 伸一 P-238
赤堀 伸一 P-239
赤堀 伸一 P-240
赤堀 伸一 P-241
赤堀 伸一 P-242
赤堀 伸一 P-243
赤堀 伸一 P-244
赤堀 伸一 P-245
赤堀 伸一 P-246
赤堀 伸一 P-247
赤堀 伸一 P-248
赤堀 伸一 P-249
赤堀 伸一 P-250
赤堀 伸一 P-251
赤堀 伸一 P-252
赤堀 伸一 P-253
赤堀 伸一 P-254
赤堀 伸一 P-255
赤堀 伸一 P-256
赤堀 伸一 P-257
赤堀 伸一 P-258
赤堀 伸一 P-259
赤堀 伸一 P-260
赤堀 伸一 P-261
赤堀 伸一 P-262
赤堀 伸一 P-263
赤堀 伸一 P-264
赤堀 伸一 P-265
赤堀 伸一 P-266
赤堀 伸一 P-267
赤堀 伸一 P-268
赤堀 伸一 P-269
赤堀 伸一 P-270
赤堀 伸一 P-271
赤堀 伸一 P-272
赤堀 伸一 P-273
赤堀 伸一 P-274
赤堀 伸一 P-275
赤堀 伸一 P-276
赤堀 伸一 P-277
赤堀 伸一 P-278
赤堀 伸一 P-279
赤堀 伸一 P-280
赤堀 伸一 P-281
赤堀 伸一 P-282
赤堀 伸一 P-283
赤堀 伸一 P-284
赤堀 伸一 P-285
赤堀 伸一 P-286
赤堀 伸一 P-287
赤堀 伸一 P-288
赤堀 伸一 P-289
赤堀 伸一 P-290
赤堀 伸一 P-291
赤堀 伸一 P-292
赤堀 伸一 P-293
赤堀 伸一 P-294
赤堀 伸一 P-295
赤堀 伸一 P-296
赤堀 伸一 P-297
赤堀 伸一 P-298
赤堀 伸一 P-299
赤堀 伸一 P-300
赤堀 伸一 P-301
赤堀 伸一 P-302
赤堀 伸一 P-303
赤堀 伸一 P-304
赤堀 伸一 P-305
赤堀 伸一 P-306
赤堀 伸一 P-307
赤堀 伸一 P-308
赤堀 伸一 P-309
赤堀 伸一 P-310
赤堀 伸一 P-311
赤堀 伸一 P-312
赤堀 伸一 P-313
赤堀 伸一 P-314
赤堀 伸一 P-315
赤堀 伸一 P-316
赤堀 伸一 P-317
赤堀 伸一 P-318
赤堀 伸一 P-319
赤堀 伸一 P-320
赤堀 伸一 P-321
赤堀 伸一 P-322
赤堀 伸一 P-323
赤堀 伸一 P-324
赤堀 伸一 P-325
赤堀 伸一 P-326
赤堀 伸一 P-327
赤堀 伸一 P-328
赤堀 伸一 P-329
赤堀 伸一 P-330
赤堀 伸一 P-331
赤堀 伸一 P-332
赤堀 伸一 P-333
赤堀 伸一 P-334
赤堀 伸一 P-335
赤堀 伸一 P-336
赤堀 伸一 P-337
赤堀 伸一 P-338
赤堀 伸一 P-339
赤堀 伸一 P-340
赤堀 伸一 P-341
赤堀 伸一 P-342
赤堀 伸一 P-343
赤堀 伸一 P-344
赤堀 伸一 P-345
赤堀 伸一 P-346
赤堀 伸一 P-347
赤堀 伸一 P-348
赤堀 伸一 P-349
赤堀 伸一 P-350
赤堀 伸一 P-351
赤堀 伸一 P-352
赤堀 伸一 P-353
赤堀 伸一 P-354
赤堀 伸一 P-355
赤堀 伸一 P-356
赤堀 伸一 P-357
赤堀 伸一 P-358
赤堀 伸一 P-359
赤堀 伸一 P-360
赤堀 伸一 P-361
赤堀 伸一 P-362
赤堀 伸一 P-363
赤堀 伸一 P-364
赤堀 伸一 P-365
赤堀 伸一 P-366
赤堀 伸一 P-367
赤堀 伸一 P-368
赤堀 伸一 P-369
赤堀 伸一 P-370
赤堀 伸一 P-371
赤堀 伸一 P-372
赤堀 伸一 P-373
赤堀 伸一 P-374
赤堀 伸一 P-375
赤堀 伸一 P-376
赤堀 伸一 P-377
赤堀 伸一 P-378
赤堀 伸一 P-379
赤堀 伸一 P-380
赤堀 伸一 P-381
赤堀 伸一 P-382
赤堀 伸一 P-383
赤堀 伸一 P-384
赤堀 伸一 P-385
赤堀 伸一 P-386
赤堀 伸一 P-387
赤堀 伸一 P-388
赤堀 伸一 P-389
赤堀 伸一 P-390
赤堀 伸一 P-391
赤堀 伸一 P-392
赤堀 伸一 P-393
赤堀 伸一 P-394
赤堀 伸一 P-395
赤堀 伸一 P-396
赤堀 伸一 P-397
赤堀 伸一 P-398
赤堀 伸一 P-399
赤堀 伸一 P-400
赤堀 伸一 P-401
赤堀 伸一 P-402
赤堀 伸一 P-403
赤堀 伸一 P-404
赤堀 伸一 P-405
赤堀 伸一 P-406
赤堀 伸一 P-407
赤堀 伸一 P-408
赤堀 伸一 P-409
赤堀 伸一 P-410
赤堀 伸一 P-411
赤堀 伸一 P-412
赤堀 伸一 P-413
赤堀 伸一 P-414
赤堀 伸一 P-415
赤堀 伸一 P-416
赤堀 伸一 P-417
赤堀 伸一 P-418
赤堀 伸一 P-419
赤堀 伸一 P-420
赤堀 伸一 P-421
赤堀 伸一 P-422
赤堀 伸一 P-423
赤堀 伸一 P-424
赤堀 伸一 P-425
赤堀 伸一 P-426
赤堀 伸一 P-427
赤堀 伸一 P-428
赤堀 伸一 P-429
赤堀 伸一 P-430
赤堀 伸一 P-431
赤堀 伸一 P-432
赤堀 伸一 P-433
赤堀 伸一 P-434
赤堀 伸一 P-435
赤堀 伸一 P-436
赤堀 伸一 P-437
赤堀 伸一 P-438
赤堀 伸一 P-439
赤堀 伸一 P-440
赤堀 伸一 P-441
赤堀 伸一 P-442
赤堀 伸一 P-443
赤堀 伸一 P-444
赤堀 伸一 P-445
赤堀 伸一 P-446
赤堀 伸一 P-447
赤堀 伸一 P-448
赤堀 伸一 P-449
赤堀 伸一 P-450
赤堀 伸一 P-451
赤堀 伸一 P-452
赤堀 伸一 P-453
赤堀 伸一 P-454
赤堀 伸一 P-455
赤堀 伸一 P-456
赤堀 伸一 P-457
赤堀 伸一 P-458
赤堀 伸一 P-459
赤堀 伸一 P-460
赤堀 伸一 P-461
赤堀 伸一 P-462
赤堀 伸一 P-463
赤堀 伸一 P-464
赤堀 伸一 P-465
赤堀 伸一 P-466
赤堀 伸一 P-467
赤堀 伸一 P-468
赤堀 伸一 P-469
赤堀 伸一 P-470
赤堀 伸一 P-471
赤堀 伸一 P-472
赤堀 伸一 P-473
赤堀 伸一 P-474
赤堀 伸一 P-475
赤堀 伸一 P-476
赤堀 伸一 P-477
赤堀 伸一 P-478
赤堀 伸一 P-479
赤堀 伸一 P-480
赤堀 伸一 P-481
赤堀 伸一 P-482
赤堀 伸一 P-483
赤堀 伸一 P-484
赤堀 伸一 P-485
赤堀 伸一 P-486
赤堀 伸一 P-487
赤堀 伸一 P-488
赤堀 伸一 P-489
赤堀 伸一 P-490
赤堀 伸一 P-491
赤堀 伸一 P-492
赤堀 伸一 P-493
赤堀 伸一 P-494
赤堀 伸一 P-495
赤堀 伸一 P-496
赤堀 伸一 P-497
赤堀 伸一 P-498
赤堀 伸一 P-499
赤堀 伸一 P-500
赤堀 伸一 P-501
赤堀 伸一 P-502
赤堀 伸一 P-503
赤堀 伸一 P-504
赤堀 伸一 P-505
赤堀 伸一 P-506
赤堀 伸一 P-507
赤堀 伸一 P-508
赤堀 伸一 P-509
赤堀 伸一 P-510
赤堀 伸一 P-511
赤堀 伸一 P-512
赤堀 伸一 P-513
赤堀 伸一 P-514
赤堀 伸一 P-515
赤堀 伸一 P-516
赤堀 伸一 P-517
赤堀 伸一 P-518
赤堀 伸一 P-519
赤堀 伸一 P-520
赤堀 伸一 P-521
赤堀 伸一 P-522
赤堀 伸一 P-523
赤堀 伸一 P-524
赤堀 伸一 P-525
赤堀 伸一 P-526
赤堀 伸一 P-527
赤堀 伸一 P-528
赤堀 伸一 P-529
赤堀 伸一 P-530
赤堀 伸一 P-531
赤堀 伸一 P-532
赤堀 伸一 P-533
赤堀 伸一 P-534
赤堀 伸一 P-535
赤堀 伸一 P-536
赤堀 伸一 P-537
赤堀 伸一 P-538
赤堀 伸一 P-539
赤堀 伸一 P-540
赤堀 伸一 P-541
赤堀 伸一 P-542
赤堀 伸一 P-543
赤堀 伸一 P-544
赤堀 伸一 P-545
赤堀 伸一 P-546
赤堀 伸一 P-547
赤堀 伸一 P-548
赤堀 伸一 P-549
赤堀 伸一 P-550
赤堀 伸一 P-551
赤堀 伸一 P-552
赤堀 伸一 P-553
赤堀 伸一 P-554
赤堀 伸一 P-555
赤堀 伸一 P-556
赤堀 伸一 P-557
赤堀 伸一 P-558
赤堀 伸一 P-559
赤堀 伸一 P-560
赤堀 伸一 P-561
赤堀 伸一 P-562
赤堀 伸一 P-563
赤堀 伸一 P-564
赤堀 伸一 P-565
赤堀 伸一 P-566
赤堀 伸一 P-567
赤堀 伸一 P-568
赤堀 伸一 P-569
赤堀 伸一 P-570
赤堀 伸一 P-571
赤堀 伸一 P-572
赤堀 伸一 P-573
赤堀 伸一 P-574
赤堀 伸一 P-575
赤堀 伸一 P-576
赤堀 伸一 P-577
赤堀 伸一 P-578
赤堀 伸一 P-579
赤堀 伸一 P-580
赤堀 伸一 P-581
赤堀 伸一 P-582
赤堀 伸一 P-583
赤堀 伸一 P-584
赤堀 伸一 P-585
赤堀 伸一 P-586
赤堀 伸一 P-587
赤堀 伸一 P-588
赤堀 伸一 P-589
赤堀 伸一 P-590
赤堀 伸一 P-591
赤堀 伸一 P-592
赤堀 伸一 P-593
赤堀 伸一 P-594
赤堀 伸一 P-595
赤堀 伸一 P-596
赤堀 伸一 P-597
赤堀 伸一 P-598
赤堀 伸一 P-599
赤堀 伸一 P-600
赤堀 伸一 P-601
赤堀 伸一 P-602
赤堀 伸一 P-603
赤堀 伸一 P-604
赤堀 伸一 P-605
赤堀 伸一 P-606
赤堀 伸一 P-607
赤堀 伸一 P-608
赤堀 伸一 P-609
赤堀 伸一 P-610
赤堀 伸一 P-611
赤堀 伸一 P-612
赤堀 伸一 P-613
赤堀 伸一 P-614
赤堀 伸一 P-615
赤堀 伸一 P-616
赤堀 伸一 P-617
赤堀 伸一 P-618
赤堀 伸一 P-619
赤堀 伸一 P-620
赤堀 伸一 P-621
赤堀 伸一 P-622
赤堀 伸一 P-623
赤堀 伸一 P-624
赤堀 伸一 P-625
赤堀 伸一 P-626
赤堀 伸一 P-627
赤堀 伸一 P-628
赤堀 伸一 P-629
赤堀 伸一 P-630
赤堀 伸一 P-631
赤堀 伸一 P-632
赤堀 伸一 P-633
赤堀 伸一 P-634
赤堀 伸一 P-635
赤堀 伸一 P-636
赤堀 伸一 P-637
赤堀 伸一 P-638
赤堀 伸一 P-639
赤堀 伸一 P-640
赤堀 伸一 P-641
赤堀 伸一 P-642
赤堀 伸一 P-643
赤堀 伸一 P-644
赤堀 伸一 P-645
赤堀 伸一 P-646
赤堀 伸一 P-647
赤堀 伸一 P-648
赤堀 伸一 P-649
赤堀 伸一 P-650
赤堀 伸一 P-651
赤堀 伸一 P-652
赤堀 伸一 P-653
赤堀 伸一 P-654
赤堀 伸一 P-655
赤堀 伸一 P-656
赤堀 伸一 P-657
赤堀 伸一 P-658
赤堀 伸一 P-659
赤堀 伸一 P-660
赤堀 伸一 P-661
赤堀 伸一 P-662
赤堀 伸一 P-663
赤堀 伸一 P-664
赤堀 伸一 P-665
赤堀 伸一 P-666
赤堀 伸一 P-667
赤堀 伸一 P-668
赤堀 伸一 P-669
赤堀 伸一 P-670
赤堀 伸一 P-671
赤堀 伸一 P-672
赤堀 伸一 P-673
赤堀 伸一 P-674
赤堀 伸一 P-675
赤堀 伸一 P-676
赤堀 伸一 P-677
赤堀 伸一 P-678
赤堀 伸一 P-679
赤堀 伸一 P-680
赤堀 伸一 P-681
赤堀 伸一 P-682
赤堀 伸一 P-683
赤堀 伸一 P-684
赤堀 伸一 P-685
赤堀 伸一 P-686
赤堀 伸一 P-687
赤堀 伸一 P-688
赤堀 伸一 P-689
赤堀 伸一 P-690
赤堀 伸一 P-691
赤堀 伸一 P-692
赤堀 伸一 P-693
赤堀 伸一 P-694
赤堀 伸一 P-695
赤堀 伸一 P-696
赤堀 伸一 P-697
赤堀 伸一 P-698
赤堀 伸一 P-699
赤堀 伸一 P-700
赤堀 伸一 P-701
赤堀 伸一 P-702
赤堀 伸一 P-703
赤堀 伸一 P-704
赤堀 伸一 P-705
赤堀 伸一 P-706
赤堀 伸一 P-707<br

人名索引

A

- 粟飯原景昭 P-54
相原 良之 P-39
安心院祥三 P-15, P-61, P-71, P-78
赤岩江里子 P-108
明石 牧子 O-19, P-41
秋本 茂 O-33
秋山 實利 O-8
安藤 誠人 O-34
安藤 直宏 P-2
青木 公子 P-105
荒木 明宏 P-9
有賀 正人 P-6
有元佐賀恵 P-42, P-57
有行 史男 P-80, P-83
有賀 文彦 P-61
浅井 紀子 P-58
朝倉 正登 P-119
浅倉 真澄 P-16
青儀 巧 P-61, P-84
朝波 省吾 P-61, P-67
浅野 哲秀 P-61, P-62, P-63
浅野 裕三 P-80, P-83
直 弘 P-65

B

- 馬場 博 O-2
馬場 恒夫 P-61, P-82
尾留川有紀子 O-16

C

- Custer, Laura P-22

D

- 伊達 孝保 P-102
出川 雅邦 S-2
出本 有紀 P-118
董 舫 O-33

E

- 江幡 淳子 P-35
遠藤 治 P-6, P-7, P-31, P-32, P-33
橋本 昇次 P-89

F

- 藤川 佳代 P-51
藤巻 秀和 P-34
藤岡 栄一 P-61
藤田 正敬 O-34
藤原 正孝 P-75
福原 潔 O-14, P-43, P-103
福本 正勝 P-76, P-77
福岡 澄江 P-42
降旗 千恵 O-9, P-25
古郡三千代 O-17, P-116
古川 秀之 O-15, P-35
- 林 真 O-10, O-35, P-20, P-21, P-24, P-61, P-71, P-110
林 悟 P-51
早津 彦哉 PL-1, O-19, O-20, O-29, P-40, P-41, P-42, P-56, P-57, P-96, P-106, P-107
早津 聰子 P-41, P-107
東口 卓史 P-80, P-83
東久邇真彦 P-23
樋口 浩文 O-24
平林 圭子 P-72
平井 収 P-61, P-68
平井 裕子 O-8

H

- 蜂谷 紀之 O-16, P-59, P-61
羽賀 新世 P-48
平本 一幸 O-26, P-95
平野 光一 P-61

平塚 明 W-3
 平津圭一郎 P-1, P-51, P-52
 平山 晃久 P-111, P-117
 久松 由東 P-30
 一ツ町晋也 P-61
 桶渡 恒憲 P-69
 本田 幸子 P-61, P-62
 本間 正充 P-18, P-19
 宝来 俊一 P-34
 堀口 佳哉 P-103
 堀川 和美 O-13, P-43
 堀内 一宏 P-4, P-14
 許 南浩 P-96

I
 市場 正良 P-60
 井出 一博 P-32
 五十嵐伸一 P-85
 井口 和彦 P-117
 飯島久美子 P-90
 稲場 文男 P-87
 猪股 智夫 O-3
 猪俣 幸代 O-32
 井上 玲 P-18, P-19
 井上 裕章 O-2
 井上 博之 P-75
 井上 誠 P-4, P-14
 井上 雅雄 P-94
 井上みゆき P-16
 井上 由起 O-1, P-100
 Intehar, Kelley O-3, P-22
 石井 忠浩 P-31, P-32, P-33
 石田 貴文 O-6
 石館 基 O-10, O-11, O-12, P-91
 石原 希世 P-35
 石原 尚古 O-3, O-23
 石原 幸治 P-85

石井 裕 O-4
 石川 莞爾 P-46
 磯部 正和 O-31
 伊藤 博敏 P-61
 伊東 和雄 P-96
 伊東 悟 P-81
 糸目 千穂 P-42
 岩倉 啓子 P-71
 岩本サカエ P-89
 岩瀬裕美子 P-27
 岩田 修永 P-103
 泉 淳 P-10, P-55

川口 達也 P-47
 河合 昭宏 P-32
 河井 一明 O-15, P-35
 川村 堅 P-12
 川西 正祐 O-27
 川瀬 重雄 P-6
 川添 豊 O-30
 彼谷 邦光 P-44
 Khouri, Hoda P-22
 菊川 清見 AL, O-26, P-95, P-104
 菊野 秩 P-18, P-19
 金 善奉 O-28, P-97
 木村 博 O-24, O-25
 木村 美佳 P-87
 木村 修一 P-87
 木村 剛 P-52
 木苗 直秀 O-17, P-116
 木内 武美 S-1, O-33, P-114
 柿本敬治郎 P-71, P-78
 角谷 俊文 O-29
 鎌滝 哲也 S-3, O-2
 亀岡 弘 P-36
 神谷 明男 P-29
 加納 喬子 P-114
 軽部 敏昭 P-12
 笠原 義典 P-61, P-72, P-101
 葛西 宏 W-4
 片岡 英子 P-18, P-19
 片岡 佳子 S-1, O-33, P-114
 加藤日路士 P-17
 加藤 隆一 O-34
 加藤 武司 O-24, O-25
 加藤 哲太 O-26, P-95, P-104
 加藤 朋子 P-70
 加藤 安彦 O-24
 加藤 基惠 O-3, O-23
 川岸 舜朗 P-109

J
 實成 文彦 P-119

K
 蒲谷 京子 O-2
 梶原 美次 P-15, P-78
 柿本敬治郎 P-71, P-78
 角谷 俊文 O-29
 鎌滝 哲也 S-3, O-2
 亀岡 弘 P-36
 神谷 明男 P-29
 加納 喬子 P-114
 軽部 敏昭 P-12
 笠原 義典 P-61, P-72, P-101
 葛西 宏 W-4
 片岡 英子 P-18, P-19
 片岡 佳子 S-1, O-33, P-114
 加藤日路士 P-17
 加藤 隆一 O-34
 加藤 武司 O-24, O-25
 加藤 哲太 O-26, P-95, P-104
 加藤 朋子 P-70
 加藤 安彦 O-24
 加藤 基惠 O-3, O-23
 川岸 舜朗 P-109

近藤 靖 P-61, P-80, P-83 P-33
 近藤 専治 P-61
 小西 拓也 P-2
 高坂 芳男 P-6
 小谷野道子 P-33
 久保 欣也 P-10
 国友 一史 O-33
 倉持 正博 P-61, P-66
 倉岡 功 P-1, P-51, P-52
 倉富 美紀 P-16
 栗原 孝行 P-94
 黒岩 幸雄 P-105
 黒川 雄二 W-5, P-110
 日柳 政彦 O-3
 楠本 雅典 P-111
 楠 洋一郎 O-8

L
 李 恵淑 P-105
 Lewtas, Joellen P-33

M
 蒔田徳太郎 P-72, P-101
 真鍋 芳樹 P-119
 真野 裕 O-19
 松田 洋 O-23, P-113
 松田 智子 P-96
 松井 恵子 P-99
 松井 道子 P-98
 松影 昭夫 P-102
 松本 明子 P-71
 松元 鄉六 P-70, P-92
 松元 孝範 P-71
 松村 久子 P-61, P-93
 松岡 厚子 O-10, O-35, P-24
 松浦由美子 P-81
 松島泰次郎 O-9, P-16
 松下 秀鶴 P-7, P-31, P-32,

N
 松山 芳浩 P-36
 道廣 幸三 P-118
 三瀬 敬治 P-86
 三島 雅之 P-4, P-14
 三浦大志郎 P-72, P-101
 宮川 誠 O-1, P-100
 宮越 稔 P-94
 宮花 浩一 P-61
 宮島 博文 P-64
 宮前 陽一 P-68
 宮西 幸一 S-1, P-114
 宮田 直樹 O-14, P-43, P-103
 宮内美津江 P-73
 宮沢 三雄 P-36
 水橋福太郎 P-46
 水沢 博 P-18, P-19
 李 恵淑 P-105
 Lewtas, Joellen P-33
 Mohamed, Magdy P-102
 森 秀樹 P-26
 森 真輝 P-25
 森久保桂子 P-54
 森本 兼彌 O-5, O-18, P-90
 森永 範子 P-5
 松田 健 P-61
 松田 昌敏 P-49
 森山 剛 P-61
 村上 光一 O-13, P-43
 村田 共治 P-46, P-61
 村田 妙子 O-1, P-100
 村山 球明 O-21
 松礼 佳苗 O-5
 松岡 厚子 O-10, O-35, P-24
 Myhr, Brian O-3, P-20, P-21, P-22
 松浦由美子 P-81
 松島泰次郎 O-9, P-16
 松下 秀鶴 P-7, P-31, P-32,

O
 落合 雅子 O-28, P-97
 小田 美光 O-22, P-3
 小田切陽一 P-12
 小田原恭子 P-17
 尾川 博昭 O-24, O-25
 小熊 義宏 P-9
 小倉 裕子 O-5
 小倉健一郎 W-3
 小椋 正造 P-15, P-71, P-78

小原 淑子 P-84
 大江 武 P-38
 大河内亜紀子 P-58
 大河内江里子 O-32
 大久保忠利 P-31
 大西 清方 P-18, P-19
 大西 武雄 P-88, P-89
 大西 克成 S-1, O-33, P-114
 大沢 浩一 P-25
 太田 敏博 P-70, P-92, P-109
 大塚 ち乃 O-11
 大塚 雅則 P-5, P-9
 大内田昭信 P-61, P-62
 大山 わか P-13
 岡 佳江 P-79
 小此木英男 P-76, P-77
 奥田 晴宏 W-3
 奥村 中 P-26
 小野 哲義 P-1, P-2, P-51, P-52
 小野 芳郎 P-47
 大森 清美 P-103
 大澤 俊彦 P-109
 押村 光雄 P-11
 大屋 幸子 P-53
 小沢 重成 P-61
 小沢 正吾 O-34
Q
 権 太浩 P-59, O-16
R
 Rajewsky, Manfred P-96
 林 瑞雄 P-28
 Roschger, Paul P-87
S
 左井 君江 P-110

佐治 文隆 O-4
 坂上 宏 P-105
 坂口 正之 P-68, P-93, P-112
 酒井小百合 P-61
 阪本 博 P-40, P-41
 坂本 京子 P-9, P-54
 坂本 了 P-85
 坂本 豊 P-8
 阪田 功 P-106
 作見 邦彦 O-30
 鮫島 義弘 O-4
 佐野 満昭 P-108
 佐野 光夫 P-36
 佐野 友春 P-44
 佐々木 有 P-61, P-68, P-93, P-112
 佐藤 精一 P-61
 佐藤 茂秋 P-62
 佐藤 孝彦 P-48
 佐藤 卓朋 O-12
 関 博 P-66
 関 良子 P-6
 関 敏彦 P-39
 関口 瞳夫 O-30
 関島 勝 P-45
 関田 節子 P-45
 関沢 浩一 O-6
 世良 暢之 O-13, O-14, P-43
 濱良 貴子 P-82
 濱谷 徹 O-3, O-23, P-54, P-61, P-113
 島田 弘康 P-61, P-81
 島田 力 O-22
 島田 康 P-61
 清水 英佑 P-6, P-28, P-76, P-77
 霜田 恵子 O-32
 下位香代子 P-93, P-108

下野 和之 P-67
 神藤 康弘 O-34
 塩見佳津子 P-118
 白石不二雄 P-34
 祖父尼俊雄 O-10, O-21, O-35, P-3, P-18, P-19, P-20, P-21, P-24, P-98, P-99, P-110
 宗宮 功 P-47
 菅井久美子 P-45
 杉江 茂幸 P-26
 杉本 茂 P-9
 杉村 隆 ML, O-28, P-97, P-115
 杉田 克生 O-7
 杉山 明男 P-50
 杉山 千歳 O-17, P-116
 杉山 千代美 P-61, P-62
 杉山 淑江 P-16
 須簾 鎮世 P-23, P-61
 諏訪 芳秀 P-74, P-115
 鈴木 文子 O-3
 鈴木 洋 P-61
 鈴木 樹理 O-6
 鈴木 任 O-30
 鈴木 菜穂 P-108
 鈴木 信夫 O-7
 鈴木 修三 P-61, P-65
 鈴木 孝昌 P-20, P-21, P-22, P-24
 鈴木 勇司 P-76, P-77

高橋 昭久 P-88
 高橋 悅 P-103
 高橋 和彦 O-30
 高畠寿太郎 P-39
 高沢 博修 O-1, P-100
 高鳥 浩介 P-54
 武田 幸作 P-88
 武田 祐子 P-27
 竹本 和夫 P-12
 竹中 栄二 P-82
 竹下 達也 O-18
 竹内 正紀 P-61
 滝澤 行雄 O-16, P-59
 玉川 勝美 P-39
 玉井 功一 P-61, P-69
 玉起美恵子 P-73
 田村 博信 P-61, P-71
 田辺富士美 P-56
 田辺 潔 P-33
 田中 売穂 O-10, P-10, P-11, P-55
 田中 智 P-27
 田中 卓二 P-26
 田中 芳乃 P-97
 田沢 正 P-66
 寺田めぐみ P-46
 Thomale, Jurgen P-96
 常盤 寛 O-13, O-14, P-43
 德光 崇 P-13
 德本 清乃 O-17, P-116
 富田 勲 P-108

豊田 佳子 P-74
 豊原真佐子 P-35
 辻 邦郎 P-115
 連川佳代子 P-82
 津志本 元 W-1
U
 鵜高 重三 P-109
 植木 一郎 O-31
 上野 芳夫 P-45
 植島 基雄 P-67
 鵜飼 優慈 P-75
 宇野 芳文 O-1, P-100
 宇野由利子 P-44, P-49
 浦川 真実 P-13
 浦澤 正三 P-86
W
 和田 武夫 P-8
 田中 売穂 O-11, O-12, O-28, P-91, P-97, P-115
 若林 敬二 O-11, O-12, O-28, P-91, P-97, P-115
 吉田 純一 P-61
 若田 明裕 P-61, P-73
 王 殿升 P-45
 田中 芳乃 P-97
 渡部 秀次 P-45
 田沢 正 P-66
 渡部 烈 W-3
 寺田めぐみ P-46
 渡辺 雅彦 O-21, O-22, O-35, P-27, P-50, P-58, P-3
 常盤 寛 O-13, O-14, P-43
 渡辺 重信 P-103
 渡辺 徹志 P-111, P-117
 吉武 彰 P-17
 德本 清乃 O-17, P-116
 綿矢 有佑 O-29
 湯野幸一郎 P-73
 Williams, Ron P-33

化学物質名等索引

A

Acetamide	P-72	8-Azaguanine	P-98
Acetic acid	P-57	Azaserine	P-73
Acetone alkylhydrazone	P-118	アントシアニン	P-88
Acetophenone	P-89	亜硝酸	P-104
<i>N</i> ² -Acetyl-2'-deoxyguanosine	P-115	亜硝酸ナトリウム	P-116
<i>N</i> ² -Acetyl-2'-deoxyguanosine 3'-monophosphate	P-115	B	
2-Acetylaminofluorene	O- 2, P-63	Benz [a] anthracene	P-65
Acetyltransferase	O-35	1,6-Benzo [a] pyrenequinone	O-15
Acrylonitrile	P-74	Benzo [a] pyrene (B [a] P)	
<i>O</i> -Ac-sterigmatocystin	P-45O- 2, O-13, O-14, P-16	
Active oxygens	P-35	Benzyl thiocyanate	P-26
Aflatoxin B ₁	P-83, P-106	Beryllium sulfate tetrahydrate	P-82
Air pollutants	P-28	Bio-antimutagen	P-109
Alkylhydrazone	P-118	Blue rayon	P-38, P-40, P-41, P-107
2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5- <i>b</i>]-pyridine (PhIP)	O-11, O-12, O-28	β-Butyrolactone	P-67
2-Amino-3-methylimidazo [4,5- <i>f</i>]-quinoline (IQ)	P-91	米国NTP選定化学物質	P-58
4-Amino-2,6-dinitrobiphenyl	P-117	ビンクリスチン	P-11
Amino acid	P-54	ブルースポンジ	P-41
9-Aminoacridine	P- 6	C	
<i>p</i> -Aminoazobenzene	P-66	Caproic acid	P-37
2-Aminobiphenyl	P-84	Caprylic acid	P-37
4-Aminobiphenyl	P-84	3-Chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2-(5 <i>H</i>)-furanone (MX)	
1-Aminonaphthalene	P-84O-17, P-116	
2-Aminonaphthalene	P-84	2-Chloroethanol	O- 1
Ara-C	P-71	Chloromethyl methyl ether	P-69
Arsenic acid	P-80	Chlorophenols	P-47
Arsenic trichloride	P-79	Chlorophyllin	P-42
Aspirinum	P-76	Chlorophyllin-Sepharose	P-42
Averufin	P-45	Chromate	P-81
Azabenzo [a] pyrene	O-14	Chrysotile	P-34

Copper	P-27	Dinitronaphthalene	P-103
Cyclophosphamide	...P-10, P-15, P-17, P-24, P-83, P-108	2,4-Dinitrotoluene	O-22
Cysteine	P-110	2,6-Dinitrotoluene	P- 3

チューブルゾールC	P-11
-----------	------

E

Epichlorohydrin	P-46
Epigallocatechin gallate	P-106, P-107
17β-Estradiol	P-62, P-63
<i>N</i> -Ethyl- <i>N</i> -nitro- <i>N</i> -nitrosoguanidine (ENNG)	P- 6, P-51
<i>N</i> -Ethyl- <i>N</i> -nitrosourea	O-23, P-20, P-24
Ethylchloride	P-16
<i>O</i> ⁶ -Ethyldeoxyguanosine	P-96
Ethylene dibromide	O-16

F

Fluoranthene	P-30, P-114
6-Fluoro-1-nitropyrene	P-44
2,4-Diaminotoluene	P-100
2,5-Diaminotoluene	P-100
2,6-Diaminotoluene	P-100
Diazoquinone	O-26, P-104

G

Dibenz [a, h] anthracene	P-64
Dibutyltin dichloride	P-48
Diethyl ether	P-53
Diethyl sulfate	P-68
Diethyl maleate	P-65
Diethylstilbestrol	P-62
7,12-Dimethylbenz [a] anthracene	
.....O- 2, P-26, P-77	

<i>N,N</i> -Dimethyl- <i>p</i> -phenylenediamine	O-10
Dimethyl sulfate	P-68
1,2-Dimethylhydrazine	P-59
Dimethyltin dichloride	P-48
1,8-Dinitropyrene	O-21

3,6-Dinitrobenzo [a] pyrene (3,6-DNBP)	O-13
Dinitrobenzo [a] pyrenes	P-43
Hair dye	P-111
Heptylic acid	P-37

Hexestrol P-62

Histidine P- 5

Hydrazine O-27

Hydrogen peroxide P- 1, P- 2,
P-52, P-53, P-115

Hydroxamic acid O-31

5'-Hydroxy-averantin P-45

8-Hydroxydeoxyguanosine P-50

Hydroxyl radical O-27, P-35

Hydroxylamine O-31

8-Hydroxyphenylpurine O-26

Hydroxyphenyl radical O-26

Hypoxanthine-guanine phosphoribosyl-
transferase (HPRT) O- 8

ヘテロサイクリックアミン O-28, P-97

I

Interferon O- 7

Iron tetra (4-sulfophenyl) porphine O-32

Iron (II) chloride P-50

Iron (III) chloride P-50

Isocyanate O-31

一重項酸素 P-95

K

河川水 P-38

カドミウム O-30

環境汚染物質 P- 7

肝葉物代謝酵素 P-105

血清 P-116

近紫外光 P-56

米糠-亜硝酸 P-107

クマリン P-112

空気浮遊粒子 P-31, P-33

L

Linear alkylbenzene sulfonate O- 4

Loxitidine O- 9

M

Manganese O-27, P-81

O-Me-sterigmatocystin P-45

MeIQx P-97

MeIQx-グアニン付加体 P-97

6-Mercaptopurine P-24, P-89

Methotrexate P-11, P-101

2-Methoxy-5-methylaniline P-100

8-Methoxysoralen P-56, P-89

5-Methylcytosine O-20

N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine
(MNNG) P-19, P-24, P-25,
P-86, P-87, P-99

N-Methyl-N-nitrosourea (MNU) P-86,
P-94, P-108, P-113

N-Methyl-valyl-amiclenomycin P-109

Methyl carbamate O- 1

Methyl methanesulfonate O-21

Methylglyoxal P-115

O⁶-Methylguanine P-99, P-113

Isocyanate O-31

Mineral oil P-75

Mitomycin C (MMC) O- 5, P-10, P-13,
P-14, P-15, P-17, P-18,
P-21, P-24, P-76, P-83,
P-86, P-90, P-93, P-108

Mother's milk P- 2

松かさ抽出物 P-105

モノクローナル抗体 O- 8

モノテルペノイド配糖体 P-36

N

Nalidixic acid P- 4

Natural soap O- 4

Nickel P-81

Nitrate P-35

1-Nitro-3-acetoxypyrene P-119

Nitroarenes O-14

Nitroazabenzo [a] pyrene O-14

2-Nitrofluorene O-22, P- 3, P- 6

[Pt(NH₃)₃Cl]₂PtCl₄ P-49

cis-Pt(NH₃)₂Br₂ P-49

Pt(C₅H₁₂N₂)Cl₂ P-49

Nitrogen dioxide (NO₂) P-30, P-114

Nitrogen mustard · HCl P-23

1-Nitronaphthalene O-22

2-Nitronaphthalene P- 3

Nitronaphthalene P-103

p-Nitrophenetole P- 3

1-Nitropyrene O-21, O-22, O-33, P- 3, P-44

4-Nitroquinoline N-oxide (4NQO) O- 9,
P-25, P-51, P-106

Nitroreductase O-35

Nitrosoamine P-104

N-Nitrosodialkylamine O-32, P-57

N-Nitrosodiethylamine P-26, P-96

N-Nitrosodimethylamine P-16, P-35,
P-83, P-106

Nitrosomorpholine P-57

ニトロ PAH P-114

O

Oleic acid O-19

Omeprazole O- 9

Pelargonic acid P-37

Pentachlorophenol O-31

Peroxidase P- 2

PhIP-DNA 付加体 O-28

Phenacetin P-23

Phenol 誘導体 P-111

m-Phenylenediamine P-111

Potassium bromate P-110

iso-Propyl methanesulfonate O- 3

Propylene imine P-32

Protease O- 7

TA98NR O-14, P-103

TPA P-112

Protooncogene O-27

[Pt(NH₃)₃Cl]₂PtCl₄ P-49

cis-Pt(NH₃)₂Br₂ P-49

Pt(C₅H₁₂N₂)Cl₂ P-49

1,6-Pyrenequinone O-15

1,8-Pyrenequinone O-15

Pyridoxal 5-phosphate (PLP) P-108

ピレン P-114

ピリミジンダイマー P-88

ポルフィリン金属錯体 O-32

R

Resorcinol P-85

D-Ribose P-54

Rotenone P-11, P-70, P-92

S

S. typhimurium TA 100 O-17, P-116

Saliva P- 2

samAB O-21

Selenium P-81

Silica silicis anhydrate P-78

Sodium azide P- 6

Sodium chloride P-25

Sodium fluoride O- 6, P-77

Sterigmatocystin P-45

Steviol P-98

Sulfatase O-33

Superoxide dismutase P-87, P-110

サイトカラシン B P-11

セスキテルペノイド配糖体 P-36

水道水 O-17, P-116

臍液 O-33

水銀 O-30

T

TA98NR O-14, P-103

TPA P-112

Testosterone	P-62	胆汁	O-33
2,4,2'4'-Tetranitrobiphenyl	P-117	タンパク質	P-104
Tetraphenylporphyrinatoiron (III) chloride		タンパク質消化物	P-104
	O-32	突然変異細胞	O- 8
Thioacetamide	P-27		
Thiobenzamide	P-27	U	
2-Thiouracil	P-89	umuDCst	O-21
Tin (II) chloride	P-50		
Transgenic mouse	P-22	V	
Triallyl isocyanurate	O-10	Valeric acid	P-37
Tributyltin chloride	P-48	Vegetables	P-35
2,3,4-Trichlorophenol	O-10	Vinylchloride	P-16
2,4,5-Trimethylaniline	P-100	Vitamin B ₆	P-108
Trimethyltin chloride	P-48	Vitamin C (アスコルビン酸)	P-107, P-110
2,4,6-Trinitrobiphenyl	P-117	Volcanicash particles	P-34
Trinitronaphthalene	P-103		
Trp-P-1	P-51, P-93, P-106	X	
Trp-P-2	O- 2, O-25, O-29, P-42, P-51, P-93	X 線	O-18, O-24
たばこ煙	P-53		
多環芳香族炭化水素 (PAH)	P-114	Y	
大気中ガス状物質	P-29	YG1021	P-103
		有機スズ化合物	P-48

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)
*第 20 回	日本教育会館 (東京)	H. 3. 11. 6-8	渡 部 烈	O35, P119 (154)

謝 辞

本大会を開催するにあたり下記の企業および団体より多大のご援助を賜わりました。ここに記して感謝の意を表します。

日本環境変異原学会第 20 回大会

組織委員長 渡部 烈

アップジョン ファーマシュウティカルズ リミテッド
エーザイ(株)
(株)大塚製薬工場
鐘紡(株)
三共(株)
塩野義製薬(株)
第一化学薬品(株)
第一製薬(株)
大正製薬(株)
大日本製薬(株)
大鵬薬品工業(株)
(株)ツムラ
(財)東京生化学研究会
東京薬科大学
日研化学(株)
日本ベーリンガーイングハイム(株)
日本レダリー(株)
藤沢薬品工業(株)
三菱化成(株)
山之内製薬(株)

大塚製薬(株)
キッセイ薬品工業(株)
協和醸酵工業(株)
サンド薬品(株)
サントリー(株)
(株)資生堂
スミスクライン・ビーチャム(株)
住友化学工業(株)
住友製薬(株)
(株)生体科学研究所
ゼリア新薬工業(株)
武田薬品工業(株)
東洋醸造(株)
鳥居薬品(株)
日産化学工業(株)
日本化薬(株)
日本ロシュ(株)
明治製薬(株)
吉富製薬(株)

平成 3 年 10 月 1 日現在

RESULTS OF ANALYSIS

Slide Identifier: **出力例!!**

Date of Analysis:

Sample material: Staining method:

Number of test: ID number: Observer's name: Remarks:

Sample of material: Concentration: ug/ml Treatment condition of S9 Mix: Amount of S9: % Amount of S9 protein: mg/ml Treatment time: h Culture time after treatment of the test substance: h Remark:

No. of metaphases scored: 6

Meta No	Count	CTG	CSG	CTB	CTE	CSR	CSE	FRG	Comment	EF	Reference
1	0	1	0	0	0	0	0	0		B58	
2	0	0	1	0	0	0	0	0		A53	
3	0	1	4	7	4	6	5	0		A51/3	
4	0	5	5	3	5	0	0	0		A53/4	
7	0	0	0	0	0	0	0	0		A51/4	
9	0	0	0	0	0	0	0	0		B42	

SUMMARY OF RESULTS FOR THIS SLIDE

Total aberrations in each category						
CTG	CSG	CTB	CTE	CSR	CSE	FRG
5	10	10	9	9	5	0

Number of cells scored: 6
Number of abnormal cells: 4
Percentage abnormal cells: 66.67
Total aberrations: 48
Aberrations per cell: 8.00

● 中期分裂細胞の自動検出…100 細胞／分
(標本によって若干の差あり)

● 異常の分類・カウント…出力例参照
(ご指定の書式への変換が可能です)

ヘガサス／サスニアシステムは、中期分裂細胞の高速検出からトータルにお手伝いします。

PEGASUS/SASCORE

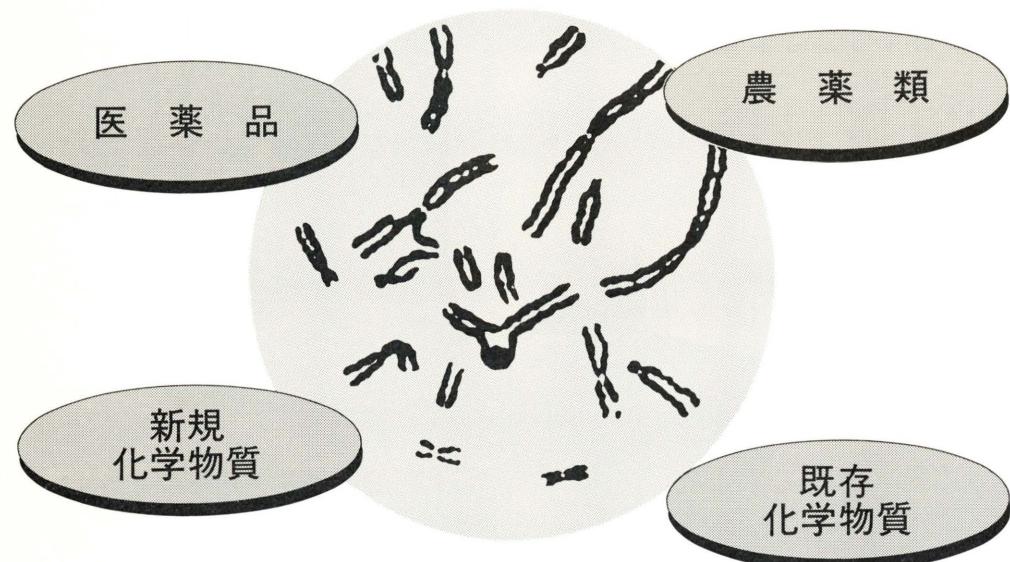
英国 ジョイス・レーブル社製

日本総代理店
IMI
INTERNATIONAL MEDICAL INTELLIGENCE
本社/埼玉県越谷市流通団地3-3-12 〒343 0489(88)4411 東京/03(3816)4411・横浜/045(316)1119
静岡/054(255)1278・名古屋/052(703)7781・大阪/06(385)5205・福岡/092(473)1871・熊本/096(359)7666・札幌/011(851)3974

オリンパスのニューウェーブです。

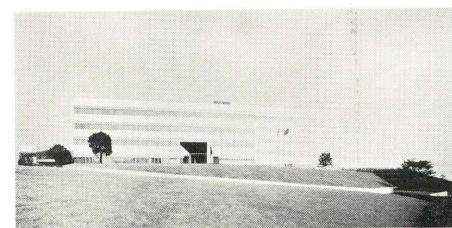
哺乳類培養細胞を用いる「染色体異常試験」を受託

化学物質の安全性評価



研究用化学物質のスクリーニング・テスト

カメラ、顕微鏡、内視鏡、その他さまざまな分野の医療関連機器の開発を目指すオリンパス光学工業。その独創的技術は国内外はもとより海外でも高い評価を得ています。1989年、「技術開発センター・宇津木」を新設。そこに、バイオメディカルリサーチセンター（BRC・狩野恭一所長）、染色体研究センター（CRC・石館基所長）を開設しました。CRCでは、染色体に関する基礎的研究の推進と、染色体研究の新鋭機器を開発。そして、発癌性並びに遺伝毒性を予測するための変異原性試験の一環として「哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験」を受託します。化学物質を取り扱う企業や研究機関の要望に応えて、GLPガイドラインに準じた試験を実施いたします。オリンパス光学ならではの国際的基盤をバックに、これらの研究業務を推進。世界の人々の健康と幸福に貢献していくことが、私たちCRCの願いです。



OLYMPUS®

オリンパス光学工業株式会社 染色体研究センター（CRC）

〒192 東京都八王子市久保山町2丁目3番地 TEL 0426-91-7111(代表) FAX 0426-91-7508 (17時15分以降直通 TEL 0426-91-7115)

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抹します。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抹します。培養後右上図の様にコロニーが出現しますが、コロニーが疎に存在する外周部のみをカウントするだけで、生菌数が求められます。

- 〈特長〉
- 1枚の寒天平板で、 $10^2 \sim 10^5 / \text{mL}$ の菌数測定可能。
 - 混釀法に比べ、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。
 - コロニーが縞長に分離されて出現するため大きさ、色、性状も同時に観察が可能。
 - 平板に試料を均一に塗抹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

グンゼ産業 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



クリメディア®AM-N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。

近年、化学物質の需要が多様化するに伴い、産業界で使用される化学物質の種類も増加の一途をたどっています。これらは同時に、数多くの職場への導入を意味し、その環境保全も急がれています。そのため、労働者の健康障害を予防するための労働安全衛生法に基づく有害性調査の制度や他の試験など、有害物質の毒性を調査する試験が必要不可欠になり、新規化学物質のがん原性のスクリーニングや、微生物を用いた変異原性試験の分野において、[クリメディアAM-N培地]の活用が益々期待されています。

■特長

- 本培地はGMP適合工場で最高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°C)暗所保存で6ヶ月間安定です。



販売元 三光純薬株式会社

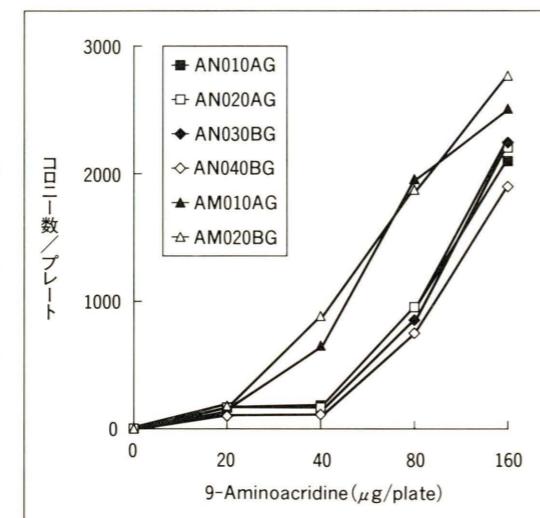
〒101 東京都千代田区岩本町1-10-6 TMMビル
PHONE.03-3863-3261 FAX.03-3862-3079
大阪支店 〒532 大阪市淀川区宮原5-8-5
PHONE.06-391-2501 FAX.06-396-6488

製造元 日清製粉

〒103 東京都中央区日本橋小網町19-12
PHONE.03-3660-3514(医薬営業部)

■データ

クリメディアAM-N培地と従来品クリメディアAM培地におけるTA1537の9-Aminoacridineによる復帰変異コロニー数

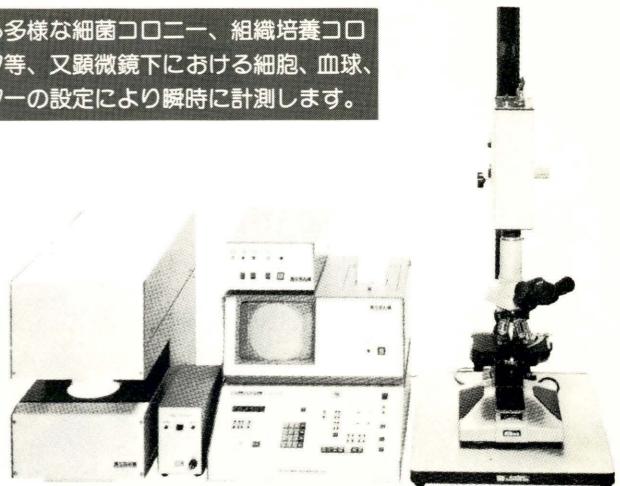


従来品クリメディアAM培地ではサルモネラ菌株TA1537の陽性対照物質9-Amino acridineの濃度80μgにおいて復帰変異コロニー数が高値(>1,000)を示すために、新製品クリメディアAM-N培地の組成がAmes Test連絡会(1990年10月31日)において日本バイオアッセイ研究所長 松島泰次郎先生により推奨されました。

Colony Analyzer Systems CA-7II

薬学、医学、生化学等の分野における多様な細菌コロニー、組織培養コロニー、バクテリアコロニー、ブラーク等、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。

- 混ざりコロニー、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
- 阻止円正式法の力値計算
- 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				
被験物質の名前:				
代謝活性化素の有無	被験物質濃度(μg/プレート)	復帰変異数(コロニー/プレート)		
		S9Mix		WP2uvrA
(-)	TA 100	TA 1535	WP2uvrA	
	149 161 (155)	20 30 (25)	25 27 (26)	
	156 142 (153)	25 27 (26)	30 19 (25)	3
	313 162 (161)	18 20 (19)	40 35 (38)	21
	625 135 (133)	13 17 (15)	37 34 (36)	2
	1250 120 (115)	12 13 (13)	17 20 (19)	
	2500 137 (134)	15 17 (16)	15 18 (17)	
	0* 0* (0)	0* 0* (0)	20 25 (23)	
	()	()	()	
	181 199 (190)	11 15 (13)	31 27 (29)	41
S9Mix	202 171 (187)	13 11 (12)	30 26 (28)	3
	156 196	15 16 (16)	30 35 (33)	
	313 210 (203)	16 15 (14)	()	
	625 185 (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一太郎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ざりコロニー、淡い小さなコロニーまで高速、正確に測定します。

※依託試料の測定を行ってあります。お気軽にお相談下さい。

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。



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1-253-16
TEL 0425 (52) 5956 (代表)

エイムス試験自動処理装置 MUTA-ROBO MR-200A

Muta-ROBOは、Ames test省力化機器開発検討会によって開発されました。
Muta-ROBOは、菌液、S9 Mix又はリン酸緩衝液、最小寒天平板、半栄養軟寒天液、検体が分注された小試験管を、予めセットするだけで、無人的に

- ①菌液分注 ②S9 Mix分注
 - ③プレインキュベーション ④軟寒天分注
 - ⑤グルコース最小寒天平板への播種 ⑥平板の積み上げ
- の全過程を自動処理します。

(用途)

- 代謝活性化法及び非代謝活性化法によるエイムス試験。
- 細菌・酵母など微生物を用いる変異原性試験。
- 生存菌計数法による修復試験 (rec-assay)。
- 寒天平板重層法による生菌数計数。

その他種々の微生物実験に活用できます。

HANDEX 白井松器械株式会社

本 社 540 大阪市中央区森ノ宮中央1丁目19-16 ☎(06) 942-4181(代)
FAX (06) 942-4566
東京営業所 113 東京都文京区本郷3丁目3-10 ☎(03)3812-8419(代)
FAX (03)3813-6954
九州出張所 815 福岡市南区玉川町1-25 ☎(092)511-0406
FAX (092)561-5367
筑波出張所 305 茨城県つくば市並木3-16-4 ☎(0298)55-3361
(並木ビル1F) FAX (0298)52-8915

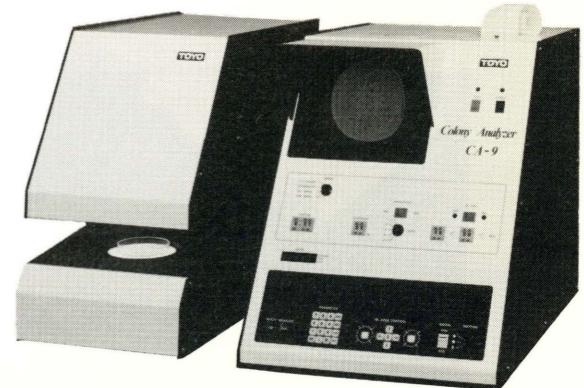
コロニー測定に威力を発揮するTOYOのテクノロジー

CA-9 COLONY ANALYZER SYSTEMS

通常シャーレ内のコロニー等(0.15mm ϕ 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、ミクロ検体も測定できます。

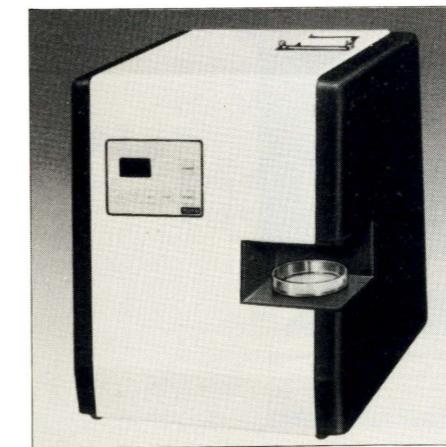


CA-9A(マクロシステム)

オプション

- 《ハードウェア》
- 高倍率レンズ(0.06mm ϕ 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90mm ϕ 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。

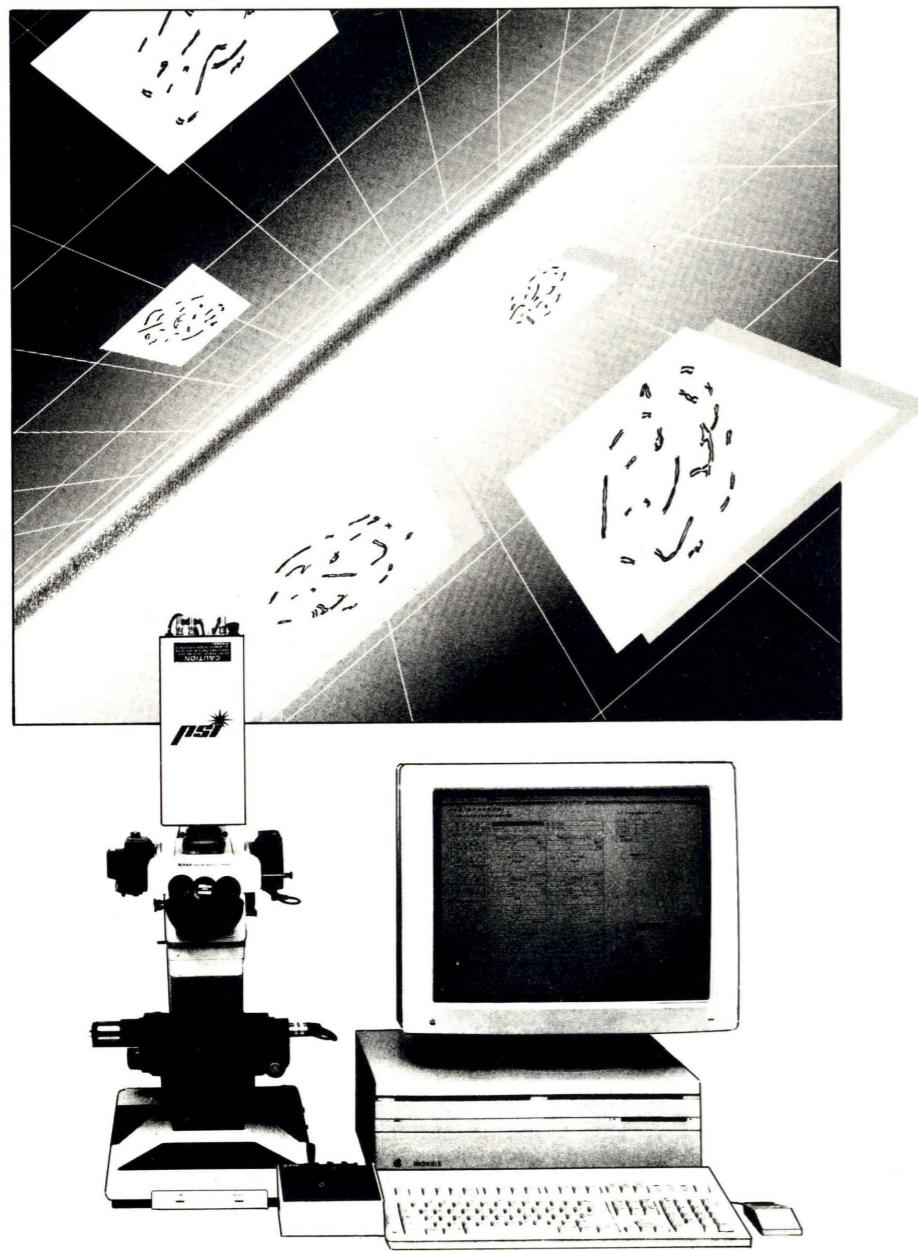
TOYO 東洋測器株式会社

〒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

Nikon

変異原性試験用染色体ラボシステム

省力化！データベース化!!
変異原性染色体試験をシステム管理。



株式会社ニコン

本社・光機営業部顕微鏡課・100東京都千代田区丸の内3-2-3(富士ビル)(03)3216-1024 / ●カタログをお送りいたします。ご希望のかたは誌名と製品名をご明記のうえ
大阪営業所・542大阪市中央区南船場2-11-20(興国ビル)(06)251-7023(代表) 本社顕微鏡課までどうぞ。

JAPAN BIOASSAY LABORATORY

日本バイオアッセイ研究センター



各省庁のG L Pに適合した安全性試験を実施し、がん原性試験を初め、すでに多くの受託試験を行い、信頼にお応えする確かなデータを提供いたします。

●吸入毒性試験・経口等毒性試験

- ・単回投与毒性試験
- ・反復投与毒性試験
- ・がん原性試験

●変異原性試験

- ・微生物を用いた復帰突然変異試験
- ・哺乳動物の培養細胞を用いた染色体異常試験
- ・げっ歯類を用いた小核試験

●その他

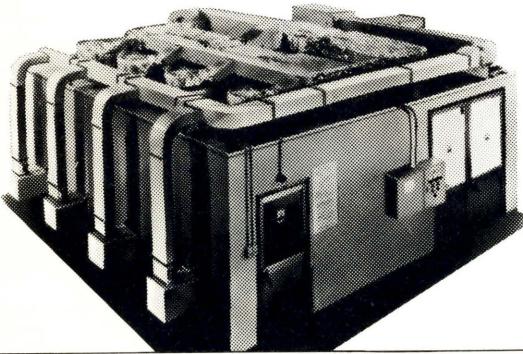
鼻部暴露吸入毒性試験およびガス状物質による変異原性試験の実績もあり御相談に応じます。

お問い合わせ

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)
FAX 0463-82-3860
企画調整部企画課



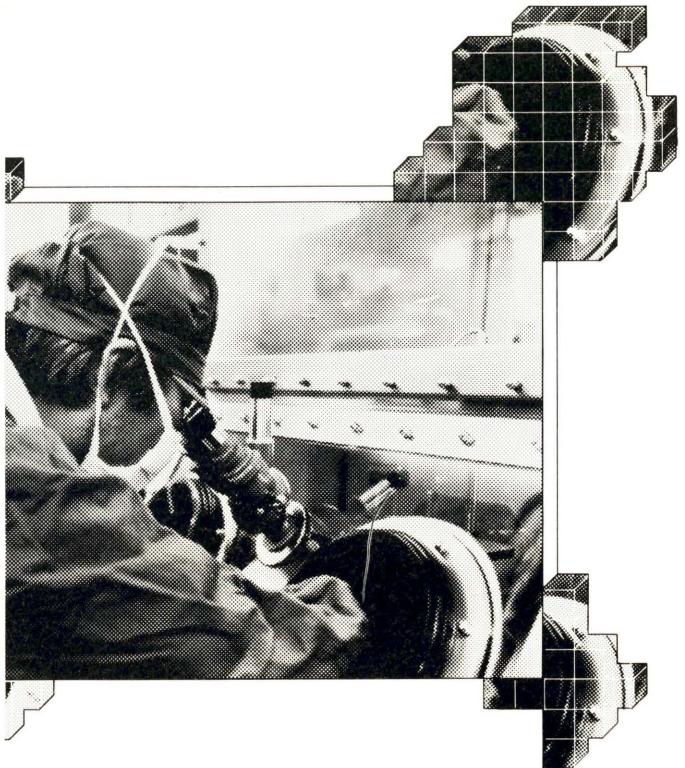
新しい未来のために…
研究者の安心のために…



日立バイオハザード対策設備

日立冷熱株式会社

〒101 東京都千代田区神田須田町一丁目23番地2(大木須田町ビル)お問合せは下記へ。
北海道支店(011)231-5301 東北支店(022)266-1321 第一営業本部(03)3255-7169 第二営業本部(03)3255-7171
施設営業本部(03)3647-1110 北陸支店(0764)25-1551 中部支店(052)251-0371 関西支店(06)531-9221
中国支店(082)221-4391 四国支店(0878)33-8701 九州支店(092)561-4851



日立はシステムの設計から施工までを行い、すでに多くの研究機関に納入しています。

安全を守るために、空調・給排水、滅菌、シールドなど高度なトータル技術が求められるバイオハザード対策。日立は、各種の設備、機器の開発だけでなく、総合力と豊富な経験を生かし、システムの設計からさらに施工まで一貫して対応。すでに多くの研究所や病院に納入され、研究者の安全確保に活躍しています。P1~P4レベルまで、バイオハザード対策設備なら日立におまかせください。

- 日立がお応えしますバイオハザード対策設備機器。
- 安全キャビネット ● 安全実験室 ● パスボックス
 - エアーロックルーム ● 各種空調機器
 - 給排気設備 ● 実験動物飼育装置など

変異原性試験は、BMLへ。

登録衛生検査所としてながい歴史をもつBML。

一般検査から特殊検査まで

幅広く臨床検査を実施してまいりました。

臨床検査の分野で培ってきた豊富な経験と技術の蓄積を生かし、BMLでは

多くの変異原性試験の受託を行い、

各方面より高い評価を受けています。
また、各種GLPの適合確認も受けてあります。

なお、実施にあたっては、委託者と研究内容、実施期間、機密保持、記録保存等に関し、

厳密な契約書を作製の上、
迅速かつ正確に試験、研究を行います。

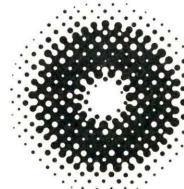
変異原性試験内容

- 1.微生物を用いる復帰突然変異試験(エームス法)
- 2.微生物を用いる感受性試験

(rec-assay:ストリーフ法、胞子法)

- 3.培養細胞を用いる染色体異常試験

- 4.げつ歯類を用いる小核試験



BML

株式会社ビー・エム・エル

お問い合わせ先:総合研究所安全性試験部 〒350 埼玉県川越市大字1361-1 TEL 0492-32-3434(直通) FAX 0492-32-8445

変異原性研究用試薬

1. 変異原性物質

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	
TRC	TH-0065-00	冷蔵	3-ACETOXYDIBENZ[a,h]ANTHRACENE	5 mg	29,000	A1650	
FTG	TF-0000-01	冷蔵	N ⁴ -AMINOCYTIDINE	N ⁴ -アミノシチジン	1 g	9,000	TF-001
TRC	TH-0005-00	冷蔵	4-AMINO-3,2'-DIMETHYLBIPHENYL		25 mg	97,000	A6050
TRC	TH-0005-20	冷蔵	2-AMINO-3,4-DIMETHYL-3H-IMIDAZO[4,5-f]-QUINOLINE (MeIQ)		25 mg	28,000	A6052
TRC	TH-0006-60	冷蔵	2-AMINO-3,8-DIMETHYLMIDAZO[4,5-f]QUINOXALINE (MeIQx)		25 mg	35,000	A6066
TRC	TH-0016-50	冷蔵	2-AMINO-3-METHYL-3H-IMIDAZO[4,5-f]QUINOLINE (IQ)		100 mg	20,000	A6165
TRC	TH-0017-00	冷蔵	2-AMINO-1-METHYL-6-PHENYLIMIDAZO[4,5-b]-PYRIDINE (PHIP)		10 mg	31,000	A6170
TRC	TH-0030-00	冷蔵	2-AMINO-3,4,7,8-TETRAMETHYL-3H-IMIDAZO[4,5-f]-QUINOXALINE (4,7,8-TriMeIQx)		10 mg	18,000	A6300
TRC	TH-0031-00	冷蔵	2-AMINO-3,4,8-TRIMETHYL-3H-IMIDAZO[4,5-f]-QUINOXALINE (4,8-DiMeIQx)		10 mg	18,000	A6310
TRC	TH-0031-60	冷蔵	2-AMINO-3,7,8-TRIMETHYL-3H-IMIDAZO[4,5-f]-QUINOXALINE (7,8-DiMeIQx)		10 mg	18,000	A6316

2. 変異原性物質吸着剤

ブルーコットン (青綿) Blue-Cotton

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、変異原性物質、殊に3環以上の多環性芳香族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。

ブルーレーヨン Blue-Rayon

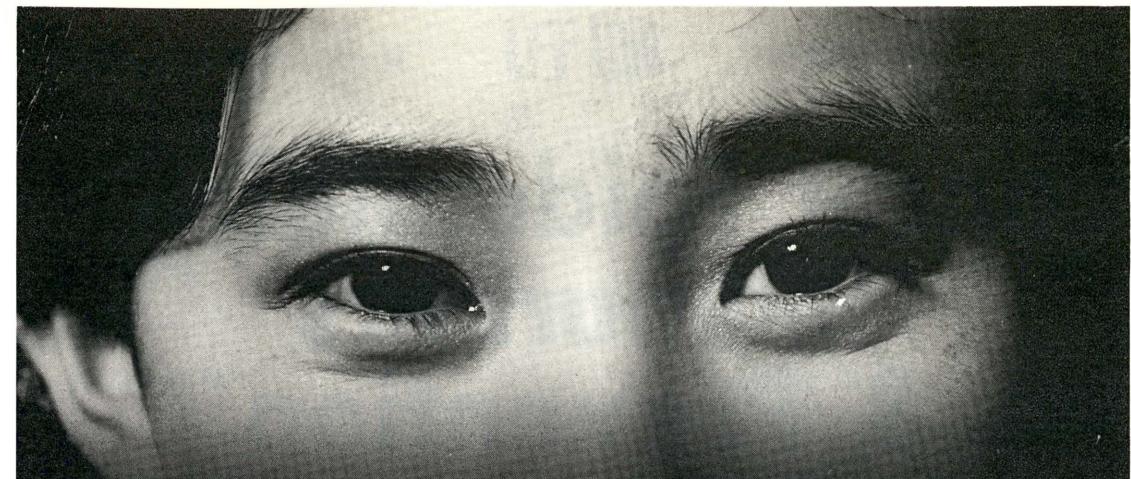
ブルーコットンと同様、青色色素銅フタロシアニン誘導体を支持体に共有結合させたもので、3環以上の多環性化合物を特異的に吸着します。ブルーコットンと異

なって、脱脂綿の代わりに非晶質レーヨンを使用しているため、ブルーコットンの約3倍の銅含有量を示し、変異原性物質の吸着・濃縮・分画に威力を發揮します。

メーカー 略称	商品番号	保存 方法	品 名	包 装	価 格 (¥)	メーカー 商 品 コ ード
COP	CB-0200-01	常温	BLUE COTTON	5 g	5,600	BC-001
	CB-0200-02		ブルーコットン (青綿)	5g × 5	26,000	BC-002
DIW	DW-0000-05	常温	BLUE RAYON	5 g	4,800	BR-05
	DW-0000-25		ブルーレーヨン	5 × 5 g	22,000	BR-25

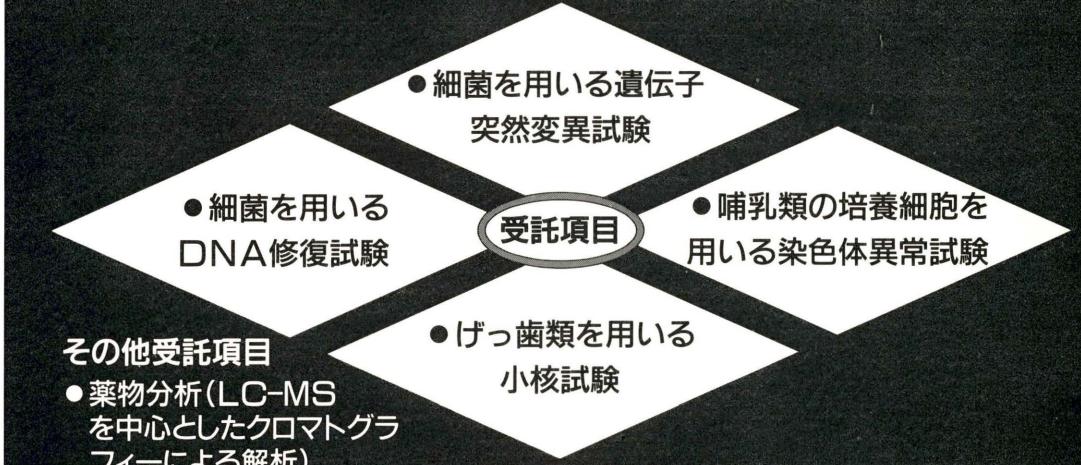
アコナコシ 株式会社

〒113 東京都文京区本郷2丁目9番7号 (ユピテル・ユニ ピルディング)
営業業務部・研究試薬部・研究機器部 ☎ 03-5684-1616 (代表) FAX 03-5684-1634
研究開発部 技術情報課 ☎ 03-5684-1620 (代表) FAX 03-5684-1633



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、下記にお願いします。

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

'91年11月
創刊
隔月刊

Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention

EDITOR-IN-CHIEF: Pelayo Correa

New from the Publisher of
Cancer Research

本誌は疫学的な観点から、ガンの原因および予防についての原著論文を特集します。

内容はガンの分布および、ガンの決定因子についての疫学、

さらにガンにたいする遺伝的な感受性、宿主側の要因、化学的 物理的な発癌物質や、

また ダイエット、喫煙、日光への暴露などの生活上の要因などを含む

疫学的な幅広い研究をカバーします。

加えて、本誌はヒトの新生物、前新生物の発生のプロセスを研究する上での

バイオマーカーの活用にまで及んでいます。

ガン予防における、化学的な予防、その他の関連する臨床実験

および生活上の要因の果たす役割についても考察しています。

Cancer Research	購読料 ￥90,200/年
Cell Growth & Differentiation	購読料 ￥24,200/年(個人) ￥37,400/年(法人)

■表示「円」価格は、消費税抜き価格です。 ■詳細は、本社「代理店業務グループ」までお問い合わせ下さい。

日本総代理店

USACO[®]

本社：〒105 東京都港区新橋1丁目13番12号提ビル
☎(03)3502-6471 FAX(03)3508-0770
営業所：大阪☎(06)344-6624 名古屋☎(052)931-2601 筑波☎(0298)23-1773

機器・試薬展示会社一覧

アイ・エム・アイ(株)
グンゼ産業(株)
三光純薬(株)
システムサイエンス(株)
白井松器械(株)
(株)ニコン
フナコシ(株)

(50音順)

広告掲載会社一覧

アイ・エム・アイ(株)
オリンパス光学工業(株)
協和发酵工業(株)
グンゼ産業(株)
三光純薬(株)
システムサイエンス(株)
白井松器械(株)
東洋測器(株)
(株)ニコン
日水製薬(株)
日本バイオアッセイ研究センター
日立冷熱(株)
(株)ビー・エム・エル
フナコシ(株)
保健科学研究所
ユサコ(株)

(50音順)

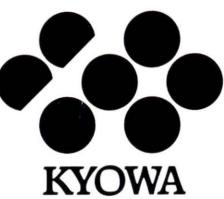
環境変異原研究 第13巻 第2号 1991年

平成3年10月15日 印刷
平成3年10月15日 発行

発行者 日本環境変異原学会

編集責任者 渡部烈(第20回大会委員長)
東京薬科大学・第二衛生化学教室
〒192-03 東京都八王子市堀之内1432-1
TEL 0426-76-5111 内403

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 03-3433-1869



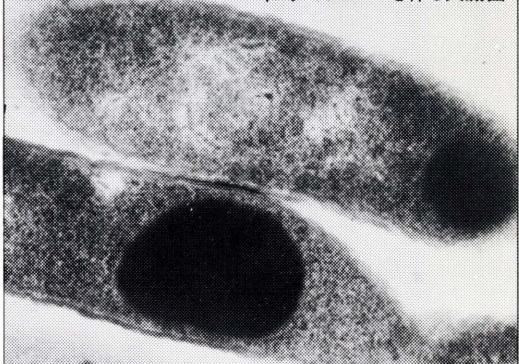
無限の可能性を追求する 協和発酵

無限の可能性を秘めたバイオテクノロジー。遺伝子組換え、細胞融合、細胞大量培養、バイオリアクターなどのテクノロジーは、歩みを早めながら、次第にその巨大な姿を現そうとしています。協和発酵は、バイオ技術の蓄積を背景に、新しい飛躍への試みを続けております。

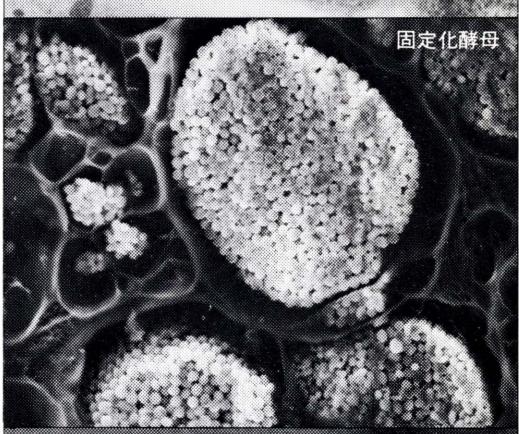
組織培養によるテッポウユリ



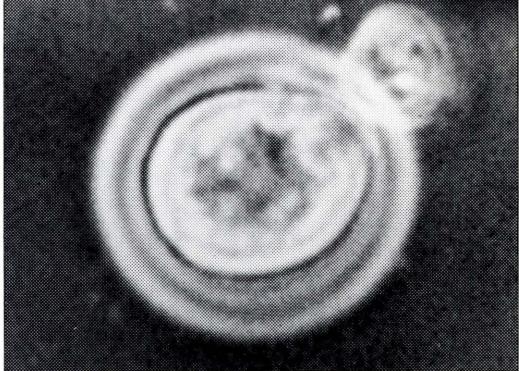
インターフェロンを作る大腸菌



固定化酵母



細胞融合



ISSN 0910-0865