

# 環境変異原研究

Environmental  
Mutagen  
Research  
Communications

日本環境変異原学会  
**(EMS Japan)**  
第15回大会 抄録集

Vol.8 No.3 1986

日本環境変異原学会  
(EMS Japan)

第15回大会

1986・東京

日本環境変異原学会第15回大会準備委員会

〒108 東京都港区白金台4-6-1  
東京大学医学研究所 癌生物学研究部内  
☎ (03) 443-8111 (内線506)

# 会学東(異文)景(本)日

(neqsl 2M3)

## 会大回(1)議

京東・8891

### 会員委員会大回(1)議会学東(異文)景(本)日

チラシの表紙を白黒で下書き  
チラシの表紙を白黒で下書き  
チラシの表紙を白黒で下書き

## ご案内

### 1. 会期 会場

昭和61年10月1日(水)、2日(木)、3日(金)

社会文化会館5階大ホール(口演)、3階第1会議室(示説)

〒100 東京都千代田区永田町1-8-1 ☎ 03-580-1171

### 会場位置図



### 利用交通機関

|   |          |          |    |
|---|----------|----------|----|
| A | 地下鉄 有楽町線 | 永田町駅下車   | 5分 |
| B | " 半蔵門線   | "        | 5分 |
| C | " 丸ノ内線   | 国会議事堂前下車 | 8分 |
| D | " 千代田線   | "        | 8分 |
| ① | 都バス 橋-63 | 国会議事堂前下車 | 2分 |
| ② | " 銀-71   | 三宅坂下車    | 4分 |

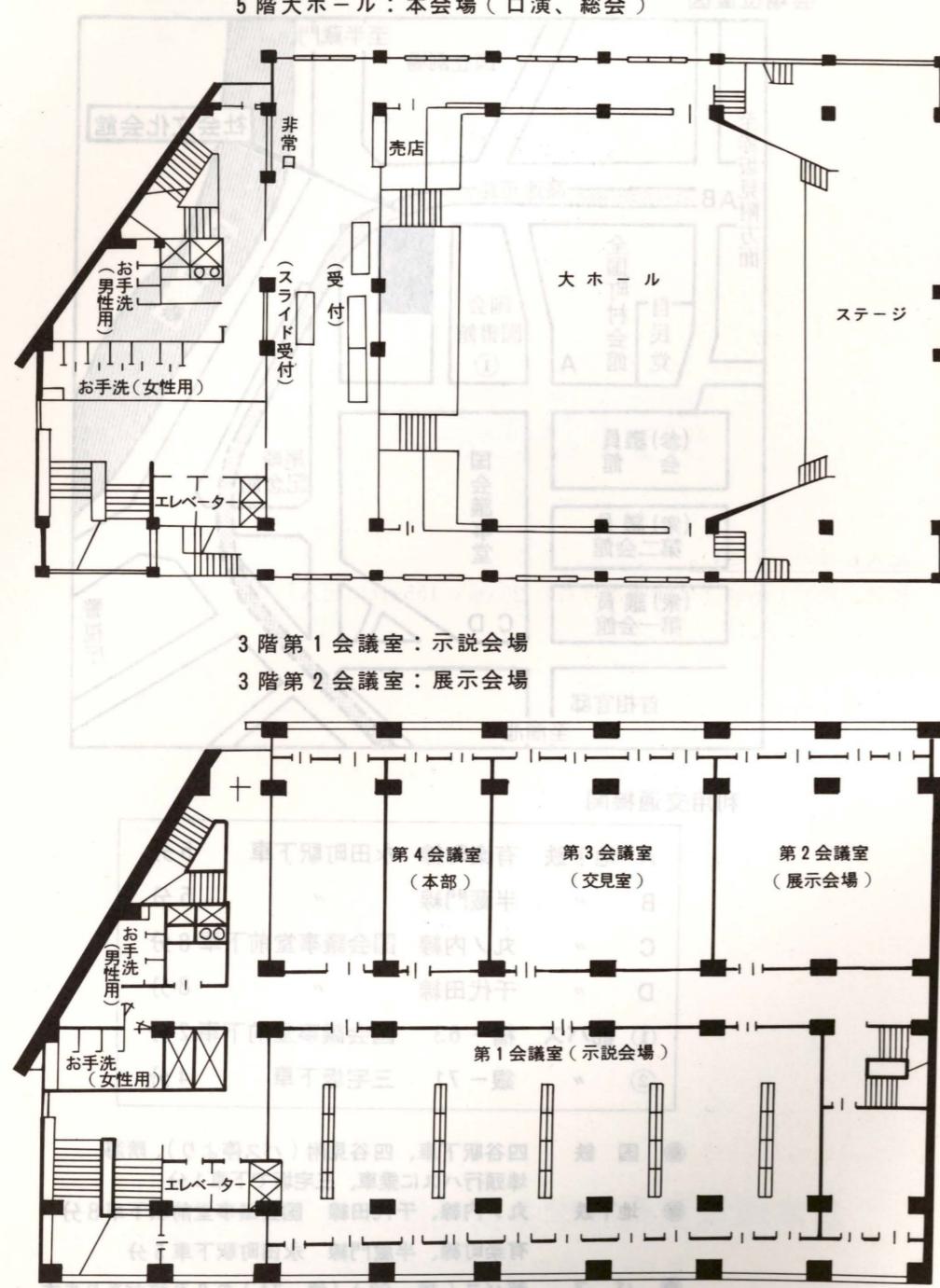
● 国鉄 四谷駅下車、四谷見附(バス停より)、晴海埠頭行バスに乗車、三宅坂で下車1分

● 地下鉄 丸ノ内線、千代田線 国会議事堂前駅下車8分  
有楽町線、半蔵門線 永田町駅下車5分

● バス 都バス(橋-63)(銀-71)の2系統があります

●昼食の案内 社会文化会館 日 地下1階 大食堂

●会場案内 5階大ホール：本会場（口演、総会）



## 2. 参加登録

受付は10月1日（水）午前12時より5階本会場（大ホール）にて行ないます。

参加費 6,000円、懇親会費 4,000円で、当日受付も行なっています。会場では必ずネームプレートをご着用下さい。

## 3. 懇親会

第2日午後6時30分よりB1 大食堂で行ないます。

## 4. 一般口演

- (1) 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10枚以内。35mm版です。同一直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1台です。
- (4) スライドは発表30分前までにスライド受付で各自所定のホルダーに入れ、試写してご確認下さい。口演後スライドは同所で速やかにお受け取り下さい。

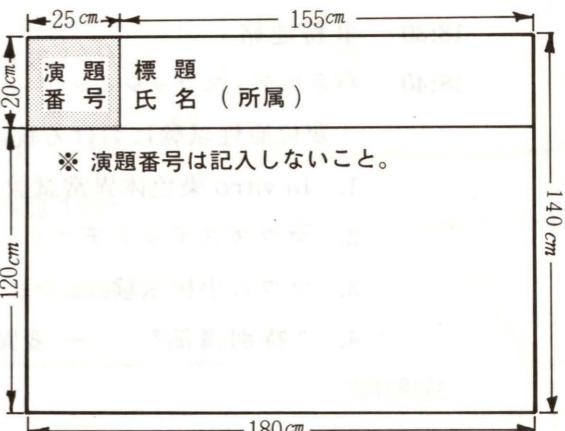
## 5. 示説発表

- (1) 示説用パネルは、横180cm、縦140cmです。
- (2) ポスターは図のように割付けて下さい。このうち、演題番号は事務局で用意しますので記入しないで下さい。

標題、氏名（所属）は演題番号右の20cm×155cmに記入して下さい。

残りのスペースはご自由にご使用下さい。ただし、もしできれば目的・方法・結果・考察などに分けて下さい。また文字は2～3cm離れても判読可能なようにお願いします。

- (3) 画鋲は事務局で用意します。パネルに直接セロテープで貼らないで下さい。
- (4) 発表説明者には発表当日リボンを3階示説会場受付で渡しますので、それを着用して下さい。
- (5) 第2日発表のポスターは第1日、10月1日（水）13:00～14:00に所定の場所に各自貼り、10月2日（木）12:30～13:00に撤去して下さい。
- (6) 第3日発表のポスターは第2日、10月2日（木）13:00～14:00に所定の場所に各自貼り、10月3日（金）12:30～13:00に撤去して下さい。



## お知らせ

### 第3回翅毛スポットテスト SMART 勉強会

主催：ショウジョウバエ変異原研究会 (DHS)

日時：10月1日(水)、午後6時～8時

場所：社会文化会館、3階第3会議室

自由参加

### MMS 分科会 第10回定例研究会

日時：10月3日(金)、午後5時～9時

場所：社会文化会館、3階第1会議室

#### — プ ロ グ ラ ム —

17:00 研究発表

「エリスロボエチンを用いる小核試験」

1. In vivo 試験法 鈴木 勇司 (慈恵医大・公衛)
2. In vitro 試験法 仁藤 新治 (田辺製薬・安研)

18:00 (夕食)

18:30 事務連絡 MMS 分科会事務局

18:40 パネルディスカッション

「変異原性試験における統計的手法の問題点」

1. In vitro 染色体異常試験 笠原 義典 (帝人)
2. マウススポットテスト 佐々木 有 (残農研)
3. マウス小核試験 林 真 (国立衛試)
4. “特別講演” — 変異原性試験の統計的諸問題 — 吉村 功 (名大・工・応用)

5. 総合討論

JEMS・MMS 分科会事務局

〒158 東京都世田谷区上用賀1-18-1

国立衛生試験所・変異原性部内

TEL: 03-700-1141 EXT (435)

## 日程表

| 10月1日(水)                | 10月2日(木)                 | 10月3日(金)                        |
|-------------------------|--------------------------|---------------------------------|
|                         |                          |                                 |
|                         | 口演 16～22<br>代謝           | 口演 28～34<br>修飾                  |
| 12:00<br>受付             | 示説 P1～P39                | 示説 P40～P77                      |
|                         | 昼食                       | 昼食                              |
| 13:30<br>口演 1～8<br>検出   | 総会                       | シンポジウム<br>変異原の in vivo<br>短期検索法 |
| 休憩 30分                  | 受賞講演                     |                                 |
| 15:36<br>口演 9～15<br>試験法 | 休憩 20分                   |                                 |
|                         | 口演 23～27<br>機構           | 16:30                           |
| 17:00                   | 休憩 10分                   |                                 |
|                         | 特別講演                     |                                 |
| 18:00                   | ショウジョウバエ<br>SMART<br>勉強会 | 哺乳動物<br>(MMS)<br>研究集会           |
| 18:30                   | 懇親会<br>(B1, 大食堂)         |                                 |
| 20:00                   |                          |                                 |

10月1日(水)

口演 (5階・大ホール)

13:30 ~ 17:00

検出

座長 西岡 一

- 13:30 1 醤油と亜硝酸により生成する変異原性についてⅡ  
—ラット胃内における亜硝酸ならびに変異原性の消長：  
○長原 歩、大下 克典、那須野 精一 (キッコーマン・生物科学研)
- 13:42 2 魚肉の加熱により生じる変異原物質：  
○菊川 清見、加藤 哲太、後藤 由美子、青野 裕美、  
今井 知子 (東京薬大)
- 13:54 3 加熱食品に含まれるニトロソ化変異原前駆物質：  
○若林 敬二、矢野 素子、長尾 美奈子、杉村 隆  
(国立がんセンター研・発がん)
- 14:06 4 1-ニトロソインドール-3-アセトニトリルのラット胃に対する潜在性癌原活性：  
○降旗 千恵、佐藤 裕子、松島 泰次郎 (東大・医科研・癌生物)
- 14:18 5 過酸化水素の変異原性の確認および食品中含量の測定とその評価：  
○西岡 一、三枝 新、米沢 さとみ、曾谷 知弘、  
布柴 達男 (同志社大・生化研)
- 14:30 6 自動車排出ガスの変異原性 (第5報)：  
○佐々木 裕子、遠藤 立一、福岡 三郎、飯田 靖雄、舟島 正直、  
石井 啓太郎、坂本 正徳 (都環境科学研、明治薬大)
- 14:42 7 ジニトロフルオランテン (DNF) の突然変異誘発能とラット発がん性：  
○堀川 和美、乙藤 武志、中川 礼子、世良 暢之、黒田 行昭、  
大塚 久、常盤 寛 (福岡衛公センター、遺伝研、徳島大・医)

座長 長尾美奈子

- 14:54 8 クロムヒューム吸入曝露ラットの骨髓及び末梢血液リンパ球の染色体分析：  
○興 貴美子、芹田 富美雄、猿渡 雄彦、鈴木 康友 (労働省産医研)

休憩 (15:06 ~ 15:36)

試験法

- 15:36 9 ショウジョウバエの *Wi* 遺伝子四重複による変異原高感度検出系の開発：  
○梁 治子、藤堂 剛、藤川 和男、M. M. GREEN (阪大・医、  
武田薬品・薬安研、カルフォルニア大)

座長 黒田 行昭

- 15:48 10 Drosophila DNA Repair Test :  
F. Fort、○藤川 和男、菊池 康基 (武田薬品・中央研)

- 16:00 11 Nuclear aberration assay (核異常試験) を用いた大腸がん原物質および  
補発がん物質の検索法の検討

- 鈴木 邦夫、光岡 知足、W. R. Bruce (理化研、東大農、Ludwig  
Inst. Cancer Res., トロント)

- 16:12 12 培養ヒトリンパ球における小核出現頻度と細胞分裂動態：  
○新川 加奈子、森本 兼彙、小泉 明 (東大医・公衛)

座長 菊地 康基

- 16:24 13 培養細胞における細胞分裂阻止法を用いた小核試験の検討：  
○若田 明裕、佐々木 正夫 (山之内製薬中央研、京都大・放生研セ)

- 16:36 14 スポットテストにおける系統差  
○板垣 佳明、古橋 忠和、須藤 鎮世、土川 清  
(野村生物科学研、遺伝研)

- 16:48 15 マウススポットテストにおける感度の系統差  
○土川 清 (遺伝研)

18:00

翅膀スポットテスト SMART 勉強会

20:00 (3階・第3会議室)

10月2日(木)

口演 (5階・大ホール)

9:00～10:24

代謝

座長 早津 彦哉

9:00 16 Norharman と rat 肝 S9 存在下における Nitrobenzene 誘導体の変異原性  
発現機構：  
○鈴木 潤三、高橋 直樹、西村 孝、鈴木 静夫(東京理科大・薬)

9:12 17 癌原性多環芳香族炭化水素に対する Sudan III の解毒促進効果：  
○榎淵 泰宏、藤田 正一、鈴木 徳治(千葉大・薬)

9:24 18 IQ の活性中間体、N-ヒドロキシ-IQ の酵素的活性化：  
○真部 俊一、山添 康、加藤 隆一(慶應大・医)

座長 加藤 隆一

9:36 19  $Fe^{2+}-H_2O_2$  による N-ニトロソアミンの活性化：  
○島田 浩美、菊一 園子、早津 彦哉(岡山大・薬)

9:48 20 生体内成分による変異原の非酵素的活性化：  
○有元 佐賀恵、早津 彦哉(岡山大・薬)

10:00 21 1-nitropyrene の生体内代謝：胆汁中の 1-nitropyrene-4,5-oxide のグルタチオン抱合体について：  
○木内 武美、西藤 佳子、大西 克成(徳島大・医・細菌)

10:12 22 ニトロアレン類の細胞内代謝活性化に関する *Salmonella typhimurium* 酵素遺伝子の分子クローニング：  
○渡辺 雅彦、能美 健彦、石館 基(国立衛試・変異原性)

示説 (3階・第1会議室)

10:30～12:30

検出

P 1 多環芳香族炭化水素の光ニトロ化、光酸化と変異原性及び DNA 切断：  
古川 秀之、○河井 一明、常盤 寛(名城大薬・生物科学、  
福岡県衛公センター)

P 2 水中 B(a)P の塩素処理生成物について：  
○神野 透人、鈴木 淳子、岩原 繁雄、松井 啓子、安藤 正典、  
武田 明治(国立衛試・食薬センター・秦野研)

P 3 3,4- Dinitrobiphenyl 誘導体の *Salmonella typhimurium* 株に対する変異原性と反応性について：  
○平山 晃久、日下部 治夫、渡辺 徹志、小野 真由美、藤岡 靖弘、  
小笠 茂、福井 昭三(京都薬大)

P 4 Mono-nitrodibenzofuran の変異原性について：  
○滝本 めぐみ、原 ゆかり、名取 信策、松島 泰次郎  
(東大医科研、明治薬大)

P 5 天然甘味料ステビオサイドとそのアグリコンであるステビオールの突然変異誘発作用に関する研究：  
○松井 道子、松井 恵子、川崎 洋子、沢田 稔、能美 健彦、  
祖父尼俊雄、義平 邦利、石館 基(国立衛試・変異原性、食品添加物)

P 6 2, 4-diaminotoluene (DAT) の過酸化水素処理生成物及び phenazine 誘導体の *S. typhimurium* TA 98 に対する変異原性について：  
○渡辺 徹志、平山 晃久、小野 真由美、横山 徹、福井 昭三  
(京都薬大)

P 7 微生物による金属の突然変異性検出法 IV. 金属塩と 9-アミノアクリジン  
およびハルマンの組合せ：  
○尾川 博昭、坂田 一矩、二井谷 好行、加藤 安彦(九工大・工・環境)

P 8 微生物による金属の突然変異性検出法 V. コバルトとピリジン化合物の相互作用強度と変異性強度：  
尾川 博昭、二井谷 好行、劉松原、坂田 一矩、○加藤 安彦  
(九工大・工・環境)

- P 9 5-Fluorouracil の in vivo 変異原性：  
○中村 稔、藤川 和男、菊池 康基(武田薬品・中央研)
- P 10 5-FU, Carmofur および Tegafur の染色体損傷性：  
○菊池 康基、F. Fort、中村 稔(武田薬品・中央研)
- P 11 ラット肝細胞 DNA 修復試験による Hydrazine 誘導体の genotoxicity：  
○杉江 茂幸、吉見 直己、森 秀樹、清水 英佑  
(岐阜大医・一病理、慈恵医大・公衛)
- P 12 ヒト肝細胞 DNA 修復試験による nitroarene 類の genotoxicity：  
○吉見 直己、杉江 茂幸、森 秀樹、木内 武美、大西 克成  
(岐阜大医・一病理、徳島大医・細菌)
- P 13 ニトロピレン、ニトロフルオレン類の in vitro 染色体異常誘発性：  
○松岡 厚子、祖父尼 俊雄、佐藤 茂秋、宮田 直樹、石館 基  
(国立衛試・変異原性、合成化学、国立がんセンター研)
- P 14 Tyramine 及び MTCA のラット骨髄細胞における小核、および、染色体異常テストについて：  
○藤江 喜美子、杉山 武敏(大阪女子大・基礎理学、神戸大医)
- P 15 Hydroxyurea のラット胎仔における小核誘発：  
○青儀 巧、深澤 洋史、田尾 勝正(大塚製薬徳島研)
- P 16 微生物および培養細胞において変異原性が認められている農薬 7 種に関するマウススポットテスト：  
○今西 久子、佐々木 有、渡辺 三恵、森谷 正明、白須 泰彦、土川 清(残留農薬研、遺伝研)
- P 17 高変異原物質ジニトロフルオランテンのディーゼル排ガス及び LPG 燃焼物からの検出：  
○中川 礼子、世良 暢之、堀川 和美、常盤 寛(福岡県衛公センター)
- P 18 ディーゼルエンジン排気物質抽出物による末梢リンパ球姉妹染色分体交換(Sister Chromatid Exchange) 誘発について：  
森本 兼彌、○三浦 邦彦、小泉 明(東京大医・公衛)
- P 19 ニトロピレンの変異原性に及ぼす共存物質の影響  
—ディーゼル排ガス粒子抽出物—：  
○松下 秀鶴、○岡尾 正之、後藤 純雄、李章 鎬、遠藤 治、村田 元秀(公衆衛生院、東大・生産研、麻布大)
- P 20 二酸化窒素中におけるアスファルトの光化学反応生成物の変異原性：  
○玉川 勝美、三島 靖子、関 敏彦、角田 行、久松 由東、松下 秀鶴(仙台市衛試、公衆衛生院)
- P 21 Forward mutation 法による室内空気浮遊粒子(粒径別)の変異原性：  
○高木 敬彦、後藤 純雄、加藤 幸彦、村田 元秀、松下 秀鶴  
(麻布大、公衆衛生院)
- P 22 タバコ副流煙中のガス状成分の変異原性：  
○高橋 清、後藤 純雄、遠藤 治、村田 元秀、松下 秀鶴  
(麻布大、公衆衛生院)
- P 23 間接喫煙と尿中変異原—ブルーセルロース・カラム法による評価：  
○早津 彦哉、早津 聰子(岡山大・薬)
- P 24 イオン交換纖維を用いたタバコタール変異原性成分の分離：  
○沢幡 正、沢野 聰子、田中 健一(東レ、安全性試験)
- P 25 Total Diet Study による日常食の変異原性について IV. 陰膳法による一人一日当りの食餌中の変異原活性：  
○麻野間 正晴、宮部 正樹、永井 祐治、田村 征男、坂部 美雄  
(名古屋市衛研)
- P 26 調理食品の突然変異原性について VI. 動物性食品の変異原活性と脂質組成：  
○村岡 知子、大野 佳美、大橋 良子、藤井 久美子、加藤 真理、久岡 祥子(山陽学園短大・食物栄養)
- P 27 Blue resin による beef extract MeIQx の分離：  
○小原 淑子、有元 佐賀恵、斎藤 寛、御船 正樹、田中 善正、早津 彦哉(岡山大・薬)
- P 28 加熱食品の変異原性とニトロピレン類の定量：  
○西藤 佳子、木内 武美、植島 基雄、大西 克成(徳島大・医・細菌)

- P 29 加熱デンプン中の DNA 損傷物質：  
○葛西 宏、戸田 直子、中山 昌子、山泉 二郎、西村 邇、及川 淳  
( 国立がんセンター研・生物、東北大・抗酸菌研 )
- P 30 Indole 及びその誘導体の亜硝酸処理により生じる変異原性：  
○落合 雅子、若林 敬二、杉村 隆、長尾 美奈子  
( 国立がんセンター研・発がん )
- P 31 Acetaminophen と亜硝酸との反応による変異原性物質の生成：  
○太田 隆文、後藤 由香、亀山 明子、滝谷 昭司( 東京理科大・薬 )
- P 32 Mutagenicity of certain isolated fluorescent substances from drinking water of Blackfoot disease endemic area in south-western Taiwan：  
○洪清霖、董一致( 台北医学院・公衛・生化 )呂峰洲、黃伯超( 台湾大医学院・生化 )清水英佑、広田秀美、鈴木勇司( 慈恵医大・公衛 )
- P 33 有機発泡剤の変異原性について：  
○蜂谷 紀之、須磨 純子、滝澤 行雄( 秋田大・医・公衛 )
- P 34 カーボンブラック含有 OA 用記録材料および印刷用インキ類の検体調製法に関する検討：  
○坂本 京子、勝村 利恵子、岩原 繁雄( 食薬センター、秦野研 )
- P 35 umu-lac 融合遺伝子を用いた変異原検出系 (VI).—ノルハルマンおよびハルマンの SOS 反応誘発—：  
○小田 美光、中村 清一、沖 岩四郎( 大阪府公衛研 )
- P 36 ジメチルスルホキシド (DMSO) の SOS 反応誘導性について：  
○中村 清一、鶴川 昌弘、小田 美光( 大阪府公衛研 )
- P 37 シメチジンのヒト・リンパ芽球様細胞における突然変異原性の検討：  
○巽 純一、豊田 万里子、立花 章、武部 啓( 京都大・医・分子腫瘍、放射能基礎医 )
- P 38 タイ国の環境発がんプロモーターについて；南洋桐油：  
○廣田 満、藤木 博太、堀内 孝彦、菅沼 雅美、杉村 隆  
( 国立がんセンター研 )

- P 39 In vitro 染色体異常試験のデータベース—951 化合物についての解析—：  
○祖父尼 俊雄、林 真、松岡 厚子、沢田 稔、M. C. Harnois、石館 基  
( 国立衛試・変異原性 )

午後会 本場 普通



昼 食 (12:30 ~ 13:30)



( 昼食後 )  
総 会

( 5 階・大ホール )

13:30 ~ 14:30

謝謝 式父典 退室

受賞講演

( 5 階・大ホール )

14:30 ~ 15:30

( 晩食 ) 日本環境変異原学会奨励賞受賞講演

司会 松島 泰次郎

In vivo 小核試験法の基礎と応用に関する研究

林 真( 国立衛生試験所・変異原性部 )

ヒト末梢リンパ球に於ける姉妹染色分体交換 (SCE) 誘発に関する研究

森本 兼義( 東京大学・医学部・公衆衛生学教室 )



休 憩 (15:30 ~ 15:50)

## 口演 (5階・大ホール)

15:50 ~ 16:50

### 機 構

座長 黒木 登志夫

- 15:50 23 Quercetin の 2-AAF に対する変異原性増強効果について：  
○小川 俊次郎、平山 晃久、徳田 光男、平井 邦夫、福井 昭三  
(京都薬大・環衛、衛生)
- 16:02 24 シャトルベクターによるマウス培養細胞の突然変異解析：  
○加藤 武司、石井 裕、池畠 広伸、今井 幸子(大阪大・医・放基)
- 16:14 25 Glu-P-1 および 4NQO による DNA の化学修飾が癌遺伝子の活性化を惹き起こす  
ことの証明：DNA 化学修飾は癌化の直接原因である：  
○首藤 紘一、橋本 祐一、河内 恵美子、関谷 剛男(東大・薬、国立がん  
センター研)
- 座長 祖父尼 俊雄
- 16:26 26 N-OH-Trp-P-2 による FM3A 細胞内 DNA の鎖切断とその修復機構：  
○綿矢 有佑、奥畑 優子、大塚 泰治、吉岡 晃子、平本 一幸、  
根岸 和雄、早津 彦哉(岡山大・薬)
- 16:38 27 In vivo マウス細胞 DNA 塩基のアルキル化とその修復 —マウススポットテスト  
と小核試験の複合投与による解析—：  
○渋谷 徹、山上 康、宮前 陽一、酒井 芳紀、原 幸、土川 清(食薬セ  
ンター泰野研、北興化学・開発研、藤沢薬品・中央研、小野薬品・福井安全性研、  
遺伝研)

## 特別講演

(5階・大ホール)

17:00 ~ 18:00

司会 松島 泰次郎

### Short-Term Mutagenicity Testing

#### — Expectations and Frustrations :

Dr. Claes Ramel

Institute of Genetic and Cellular Toxicology

Wallenberg Laboratory

University of Stockholm

Sweden

## 懇親会

(B1・大食堂)

18:30 ~ 20:30

10月3日(金)

口演(5階・大ホール)

9:00 ~ 10:24

修 飾

9:00 28

プロリンによる発癌予防の可能性：

徳植 信行、熊井 淑子、○宮崎 博之、山口 俊平、楠 慎一郎  
(アドバンス・生命科学研)

9:12 29

緑茶熱湯抽出エキスの *in vitro* 発癌プロモーション抑制作用について：  
○中村 好志、原田 晴司、原 征彦、富田 勲(静岡薬大、三井農林)

9:24 30

水生植物の抗変異原作用：  
○佐藤 孝彦、藤本 貴子、小瀬 洋喜、松田 浩明、永瀬 久光、  
鬼頭 英明(岐阜薬大・環境衛生)

9:36 31

金属化合物の抗突然変異性 (i) As (III) と Se (IV)：  
○布柴 達男、佐藤 まゆみ、三枝 新、曾谷 知弘、西岡 一  
(同志社大、生化研)

座長 大西 克成

9:48 32

哺乳動物細胞に対するビタミン類の変異原修飾作用：  
○黒田 行昭(遺伝研)

10:00 33

ペルオキシダーゼによるヘテロサイクリックアミンの不活性化機構：  
○北川 義徳、小松原 佐和子、諏訪 芳秀、吉柄 肇、長尾 美奈子、  
杉村 隆(サントリー応用微生物研、国立がんセンター研)

10:12 34

スーパーオキサイドジスマターゼによる芳香族ヒドロキシルアミンのニトロソ体への変換：  
○平本 一幸、難波 哲人、根岸 和雄、早津 彦哉(岡山大・薬)

示説(3階・第1会議室)

10:30 ~ 12:30

試験法

P 40

muc 遺伝子導入による枯草菌の変異原検出感度の改良：

○田ノ岡 宏、田中 和彦(国立がんセンター研・放射線)

P 41

umu 試験の高感度化—ケイ光光度法の応用—：

○遠藤 治、後藤 純雄、村田 元秀、松下 秀鶴(麻布大、公衆衛生院)

P 42

連続的濁度測定法による Rec-assay：

○坂本 豊、山本 清、中村 直美、菊池 康基(武田薬品・中央研)

P 43

変異原のプラスミド DNA に及ぼす影響—アルキル化剤 ENNG での検討—：

○井上 誠、佐藤 忠夫、辻 純一郎(中外製薬・開発研・安全性セ)

P 44

Bubbling によるガス状物質の変異原性テスト(第3報)：

○広田 秀美、林 和夫、鈴木 勇司、清水 英佑(慈恵医大・公衛)

P 45

細菌を用いる誘発突然変異頻度試験(IMF テスト)：

製薬協・基礎研究部会・MF テスト検討サブグループ

P 46

ショウジョウバエ翅毛スポットテスト—N-ニトロサミンの変異原性と近紫外光の影響—：

○根岸 友恵、早津 彦哉(岡山大・薬)

P 47

*In vitro* 染色体異常試験における 2,3 の検討(2)：

島田 弘康、○清水 千春、恵比根 豊、佐藤 利之、山田 明甫  
(第一製薬・中央研)

P 48

エリスロポエチン分化誘導赤芽球を用いた *in vitro* 小核試験(1)：

○仁藤 新治、近藤 靖、小野 隆昭、有行 史男、岡庭 梓  
(田辺製薬・安全研)

P 49

エリスロポエチン分化誘導赤芽球を用いた *in vitro* 小核試験(2)—*in vitro* 条件下におけるマウス系統差—：

○近藤 靖、仁藤 新治、小野隆昭、有行 史男、岡庭 梓(田辺製薬・安全研)

- P 50 BDF<sub>1</sub> マウスを用いた小核試験検出率に及ぼす加令と性差の影響：  
○二宮 ルリ子、小泉 直子、井上 芳樹、塚本 利之（兵庫医大・公衛）
- P 51 マウス過令と小核誘発：  
○手塚 英夫、玉井 功一、村上 和生、賀田 恒夫（遺伝研、保健科学研、三和化学研）
- P 52 マウス小核試験における系統差：  
○佐藤 精一、西 義介、乾 直道（日本たばこ・生物実験セ）
- P 53 小核試験における系統差：  
小核試験共同研究グループ（JEMS, MMS 分科会）
- P 54 ENU のマウススポットテストにおける H-2 遺伝子座の関与：  
○小野 隆昭、近藤 靖、仁藤 新治、有行 史男、岡庭 梓、土川 清（田辺製薬・安全研、遺伝研）
- 機 構
- P 55 DNA クロスリンク剤による *umuC*<sup>+</sup> 遺伝子の誘発：  
大西 武雄、○岩本 サカエ、野津 敬一（奈良医大・生物、奈良衛研・予防衛生）
- P 56 ソラーレン感受性株である酵母菌の DNA クロスリンク剤に対する感受性：  
大西 武雄、○米田 和子、杉村 佳洋子、野津 敬一（奈良医大・生物、薬剤）
- P 57 アルキル化剤によって誘発されるショウジョウバエ翅毛スポットの成因：  
○原 巧、渋谷 徹、加藤 基恵、松田 良枝（食薬センター・秦野研）
- P 58 線虫 *Caenorhabditis elegans* における染色体異常と劣性致死突然変異の誘発：  
玉井 功一、○定家 義人、賀田 恒夫（遺伝研）
- P 59 活性酸素発生系における染色体異常の誘発 IV. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 抵抗性細胞による検討（その2）：  
○沢田 稔、祖父尼 俊雄、畠中 みどり、石館 基（国立衛試・変異原性）
- P 60 Erythropoiesis からみた小核試験（その1）Mitomycin C 投与後のマウス骨髄中赤血球数の変化について：  
○永江 祐輔、鈴木 勇司、清水 英佑（日本チバガイギー、慈恵医大・公衛）
- P 61 Erythropoiesis から見た小核試験（その2）エリスロポエチンの小核誘発能に与える影響：  
○鈴木 勇司、清水 英佑、永江 祐輔（慈恵医大・公衛、日本チバガイギー）
- P 62 MNU による雄マウス生殖細胞の DNA 修復：  
○井上 雅雄、栗原 孝行、宮越 稔、近藤 宗平（金沢医大、近畿大）
- 修 饰
- P 63 柴胡エキス中の変異原性増強作用物質に関する研究：  
○新川 美紀、坂井 至通、小瀬 洋喜、佐藤 孝彦、永瀬 久光、鬼頭 英明、佐藤 元泰、水野 瑞夫（岐阜薬大、岐阜県衛研）
- P 64 エノキタケ中の抗変異原性成分：  
○植島 基雄、木内 武美、小川 正、大西 克成（徳島大・医・細菌、食品）
- P 65 お茶類およびその成分による Aflatoxin B<sub>1</sub> 誘発染色体異常の抑制について：  
○大西 淑江、藤江 喜美子、伊藤 義明（大阪女子大・基礎理学、神戸市環保研）
- P 66 生薬の抗突然変異性（II）メカニズムと DNA 修復促進：  
○三枝 新、大塚 淳宏、布柴 達男、曾谷 知弘、西岡 一（同志社大・生化研、ハウス食品）
- P 67 抗酸化剤の抗突然変異性：  
○曾谷 知弘、東口 浩子、三枝 新、布柴 達男、西岡 一（同志社大・生化研）
- P 68 アラニンーグルコース Maillard 反応物の助および抗変異原性：  
○俞 栄植、黒田 孝一（大阪市大・医・公衛、大阪市環研科）
- P 69 食品中の SOS 反応抑制成分について：  
○尾花 裕孝、中村 清一、田中 涼一（大阪府公衛研）
- P 70 代謝活性化を必要としないニトロソ化合物の変異原活性に及ぼすカルボン酸の影響：  
○武田 啓、平野 真理、望月 正隆（共立薬大）

P 71 Interplasmidic Recombination に対する抗突然変異因子の作用：  
太田 敏博、○渡辺 三恵、白須 泰彦、井上 正、賀田 恒夫  
( 残留農薬研、遺伝研 )

P 72 アセトアミノフェンの変異原増強作用 —— DNA 修復修飾作用について：  
○佐々木 美枝子、金西 信次 ( 東京都衛研・毒性 )

P 73 培養細胞に対する化学変異原の複合効果 Ⅲ MMS と EMS 処理の時間差による影響：  
○小島 肇、小西 宏明、黒田 行昭 ( 日本メナー化粧品・生化学研、遺伝研 )

P 74 FM3A 細胞を用いた N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) による誘発突然変異に対する塩化コバルトの抑制効果：  
○森田 泰信、水谷 正寛 ( 食薬センター・秦野研 )

P 75 抗癌抗生物質がヒトリソバ球に誘発する染色体異常と SCE に対する SOD の抑制効果：  
○津田 昌一郎、今西 仁、三沢 信一、阿部 達生、瀧野 長郎 ( 京都府医大・三内 )

P 76 マイトマイシン C により誘発される SCE および染色体異常に対するバニリンの影響：  
○佐々木 有、今西 久子、太田 敏博、白須 泰彦、賀田 恒夫 ( 残留農薬研、遺伝研 )

P 77 ヒト腸内細菌のジメチルニトロサミン減衰作用：  
○岡崎 秀、河合 康雄 ( アドバンス医科学研 )

昼 食 ( 12:30 ~ 13:30 )

シンポジウム  
( 5 階・大ホール )  
13:30 ~ 16:30

変異原の in vivo 短期検索法

— 有用性と問題点 —

司会 近藤 宗平  
松島泰次郎

|       |     |                           |                        |
|-------|-----|---------------------------|------------------------|
| 13:35 | S 1 | ショウジョウバエのスポットテスト          | 梁 治子 ( 大阪大・医・放基 )      |
| 14:05 | S 2 | マウス スポット テスト              | 一つ町 晋也 ( 武田薬品・中央研 )    |
| 14:35 | S 3 | マウス小核試験                   | 林 真 ( 国立衛試・変異原性 )      |
| 15:05 | S 4 | $^{32}\text{P}$ - ポストラベル法 | 山下 克美 ( 国立がんセンター研・生化 ) |
| 15:35 | S 5 | 不定期 DNA ( UDS ) 法         | 降旗 千恵 ( 東大・医科研・癌生物 )   |
| 16:05 |     | 総合討論                      |                        |

17:00  
哺乳動物試験系 ( MMS ) 研究集会  
21:00  
( 3 階・第 1 会議室 )

# 特別講演 受賞講演 シンポジウム

SHORT-TERM MUTAGENICITY TESTING  
— EXPECTATIONS AND FRUSTRATIONS

Claes Ramel

Head of Institute of Genetic and Cellular Toxicology  
Wallenberg Laboratory, University of Stockholm, Sweden

The activation of oncogenes in carcinogenesis implies specific and definable mutagenic events. This finding has provided a strong support for the notion that somatic mutations constitute critical events in cancer development and it has also established a coherent basis for short-term mutagenicity assays as a means of predicting carcinogenicity. Analyses of oncogene activation and activation of other genes involved in some tumours, such as retinoblastoma, furthermore indicate that practically all kinds of genetic alterations can be linked to the process of tumour formation at one stage or another.

In spite of the fact that the use of short-term tests thus has acquired a logical foundation the practical applications and interpretations of these tests have met with considerable complications during the last few years. The close correlation between animal carcinogenicity and mutagenesis in bacterial and other short-term tests, as reported ten years ago, has not stood further scrutiny with some other sets of chemicals. In many cases it can be suspected that chemicals increasing the tumour frequency may act by means of epigenetic rather than genetic mechanisms, which is in accordance with present knowledge of the multistage process of tumour formation. Also some mutagenic chemicals acting as initiators may require a combined treatment with a promotor in order to elicit tumours.

It should, however, also be emphasized that the short-term tests are in general directed towards "conventional" mutations - point mutations, chromosomal aberrations and numerical chromosome changes. This approach rests on the classical concept of the genetic material as a highly stable system, subjected to changes only through rare stochastic mutational events. However, the genetic research during the last fifteen years has, to a great extent, been engaged in the completely reverse aspect of DNA - its instability, as

exemplified by reverse transcription, transpositions, insertion mutations, polygene mutations, gene amplifications and DNA methylation. There are indications of DNA alterations in carcinogenicity, which are not in accordance with "conventional" mutations and mutation frequencies, and the genetic endpoints of short term assays may not accurately disclose some genetic alterations involved in carcinogenicity. The genetic alterations during the process of tumour formation in fact hint at an induction of a high degree of genetic instability resulting in a cascade of mutational events.

In some cases genetic effects on DNA may occur through indirect actions for instance by means of an imbalance of the nucleotide pool or the secondary generation of oxygen radicals, which require special experimental procedures to reveal.

It should furthermore be pointed out that only rarely can the experimental procedure in short-term assays reflect the processes *in vivo*, which lead to organ specific induction of tumours, such as specific tissue distribution and variation in metabolism and DNA repair. Furthermore the risk for tumour induction also depends on opposite forces for instance metabolic activation and deactivation of chemicals, and the balance between mutagens and antimutagens, promoters and antipromoters, oxygen radicals and radical scavengers, and these factors may also contribute to organ specificity.

It is likely that new approaches of short-term tests in accordance with the development of molecular genetics and DNA technology and against our increasing knowledge of the sequence of events leading to cancer, will improve the predicting power of these assays. However, the strategy of testing today can clearly be improved by a better and more systematic use of the massive amount of data available from short-term tests. Computer systems, which are directed towards an evaluation of short-term assays in relation to chemical properties of test compounds have proved to be important tools to optimize the selection of appropriate test batteries and to improve the prediction power of short-term assays. Further development and application of such systems should be a matter of high priority in the future.

## 受賞講演

### In vivo 小核試験法の基礎と応用に関する研究

林 真（国立衛生試験所・変異原性部）

マウス骨髄を用いる小核試験は化学物質の染色体異常誘発性を調べる *in vivo* 試験法として広く用いられている。しかしながら、これまで小核の生成と染色体異常との関係については不明な点が多くあった。

作用機序の異なる3種のモデル物質 (mitomycin C, 6-MP, Ara-C) を用い、染色体異常誘発と小核誘発の経時的变化を詳細に検討し、コンピュータによるシミュレーションによって小核赤血球の生成機構を明らかにした。さらに小核の DNA 量と染色体断片の相対的な長さを比較することにより、小核が染色体断片に由来することを示した。<sup>1)</sup>

アクリジンオレンジ蛍光染色法を導入し、従来のギムザ染色法では小核との識別が困難とされていたラット骨髄中の肥満細胞に由来する顆粒やキナクリン塩酸塩等の処理によって出現する RNA 性の顆粒などとの識別を可能にした。これによって小核試験における測定精度を大幅に向上させることができた。<sup>2)</sup> また小核試験を最適な条件下で実施するための投与量および標本作製時期の設定を効率良く行うための予備試験法を開発した<sup>3)</sup>。陰性対照群における小核赤血球の出現頻度が2項分布によく一致することを確認し、背景データを用いる小核試験の統計処理法についても検討を加えた。<sup>4)</sup>

小核試験の機械化をフローサイトメータを用いて検討し、顕微鏡による観察結果との間に高い相関性のあることを認めた。フローサイトメータによる機械化を確立することによって、より多くの細胞を短時間で計測することが可能となり、末梢血を用いて環境変異原の慢性的影響を評価することが期待される。

1) M. Hayashi, et al., *Mutat. Res.*, 127: 129 - 137 (1984).

2) M. Hayashi, et al., *Mutat. Res.*, 120: 241 - 247 (1983).

3) M. Hayashi, et al., *Mutat. Res.*, 141: 165 - 169 (1984).

4) 林 真、他、トキシコロジーフォーラム、8: 48 - 57 (1985).

## 受賞講演

### ヒト末梢リンパ球に於ける姉妹染色分体交換 (SCE) 誘発に関する研究

森本 兼義（東京大学医学部・公衆衛生学教室）

ヒト末梢リンパ球は容易に採取できる生体試料として、環境科学上の有用性が高い。又染色体の変異は、それ自身が遺伝物質そのものの変化であり、発癌・催奇形性・加齢現象等との関連性も深い。染色体の変異の中で特に、姉妹染色分体交換 (SCE) は DNA 傷害の鋭敏な指標として注目されている。

Autoradiography・姉妹染色分体同時分染法を開発して、ヒトリンパ球試験管内分裂動態を詳細に解析した所、フィトヘマグルチニン (PHA) 添加培養後 24 時間目からヒトリンパ球は順次、細胞分裂を開始する。又、一旦細胞分裂サイクルに入ったヒトリンパ球は 12~14 時間の generation time で細胞分裂を継続する事が明らかとなった。<sup>1,2)</sup> ヒトリンパ球培養法を用いて、数少ないヒト発癌物質の一つである benzene の代謝と毒性に関する検討を行なった。その結果、benzen そのものは全く SCE を誘発せず細胞毒性も低いが、その体内代謝産物、特に catechol と hydroquinone が極めて強い SCE 誘発能を示した。これらの事から、catechol や hydroquinone から形成される benzo-semiquinone 類や oxygen radicals が benzene の究極的な発癌物質と考えられた。<sup>3-5)</sup>

又、種々の環境変異原に試験管内で暴露した遺伝性好発癌性疾患患者由来リンパ球での SCE 誘発特性<sup>6,7)</sup> 或は代表的な環境変異原物質の複合影響機構解析<sup>8)</sup> 等を行なう一方、SCE 誘発を指標として変異原・癌原性物質を同定する目的でのリンパ球培養法の有用性を確認した。<sup>8-11)</sup>

末梢リンパ球培養法を用い、種々の環境変異原暴露下にあるヒト集団の体細胞染色体変異を SCE 頻度でモニタリングする研究では、種々のライフスタイル（喫煙・飲酒・ストレス等）により末梢リンパ球 SCE 頻度が有意に変化する事実を報告した。又、SCE 法を用いる事により、リンパ球分裂動態が容易に解析でき、Down 症リンパ球の放射線高感受性は主としてこれらのリンパ球が PHA に対して速い反応を示す事である事を証明した。<sup>12-13)</sup> 又、sub-toxic なレベルの変異原・発癌物質に長期に暴露した際に誘発される、いわゆる cellular adaptation の能力は、ヒトリンパ球を用いた場合、個人間で大きな差のある可能性を示唆した。<sup>14)</sup>

Morimoto et al., :

- 1) *Nature* 288:604-606 (1980)
- 2) *Exp. Cell Res.* 145: 349-356 (1983)
- 3) *Cancer Res.* 40: 1189-1193 (1980)
- 4) *Cancer Res.* 43: 1330-1334 (1983)
- 5) *Mutation Res.* 119: 355-360 (1983)
- 6) *Human Genet.* 63: 19-23 (1983)
- 7) Tice and Hollaender (eds.) *Sister Chromatid Exchange*, Plenum Press, New York, pp. 677-693 (1984)
- 8) *Mutation Res.* 102: 183-192 (1982)
- 9) *Mutation Res.* 152: 187-196 (1985)
- 10) Tice and Hollaender (eds.) *Sister Chromatid Exchange*, Plenum Press, New York, pp. 677-693 (1984)
- 11) *Environ. Res.* 32: 72-79 (1983)
- 12) *Cancer Res.* 44: 1499-1504 (1984)
- 13) *Human Genet.* 66: 57-61 (1984)
- 14) *Human Genet.* 73: 81-85 (1986)

変異原の *in vivo* 短期検索法 —有用性と問題点—

司会　近藤　宗平（近畿大）  
松島　泰次郎（東大）

はじめに　　これまでの検索法と併用して用いられる方法として、既存の環境化学物質の変異原性の検索や癌原性の予測には、*in vitro* 短期検索法が開発されて用いられている。なかでもサルモネラ菌を用いる微生物変異原性試験法は有効で世界中で広く利用されてきた。AF-2 や加熱食品中のヘテロサイクリックアミン類やニトロピレン類など数多くの環境変異原物質が見出された。癌原性があとから確認された例も増えている。一方そのなかには、例えばフランボン類のケルセチンの様に種々の *in vitro* 短期検索法で陽性であるが、いくつかの *in vivo* 短期検索法で陰性の物質も見つかってきた。

この様に、*in vitro* 短期検索法で見出された変異原物質の生体への影響を評価するためには、数多くの実験動物を用いる長期試験を実施する前に、*in vivo* 短期検索法で調べて評価する必要がある。種々の *in vivo* 短期検索法が開発されているが、いろいろな問題を含んでいる。生殖細胞を用いる *in vivo* 短期検索法は遺伝毒性を評価するうえで重要であるが、今回は体細胞を用いる *in vivo* 短期検索法に限定して 5 種類の方法を選出して方法の紹介とともに、方法の有用性と問題点を明らかにし、*in vivo* 短期検索法を利用する方の参考にすると同時にこれらの方法を改良開発するための基礎にしたいと考えて表題のシンポジウムを企画した。

## S1

## ショウジョウバエのスポットテスト

梁　治子（大阪大学医学部・放射線基礎医学教室）

すぐれた *in vitro* 系を用いる試験で、環境変異原が次々と検出されている。しかし、*in vitro* テストの結果のみでヒトへの危険度を評価するわけにはいかない。そこで、取扱いが簡単で費用もかかるショウジョウバエを用いて、幼虫を丸ごと環境原にさらす事で検出される体細胞突然変異を指標とした *in vivo* 短期試験を試みた。体細胞突然変異は、変異原で暴露された幼虫は成虫になった時、翅毛の形態異常や眼色の変化したクローランとして検出される。三種のスポットテストを紹介する。1) 翅毛スポット系：染色体の組換え、欠失、消失、不分離による染色体突然変異と、遺伝子突然変異（前進型）を検出する系。バクテリヤの系で検出されなかったもの、例えば、Urethane, Benzen, Methotrexate, Vinblastine が検出された。2) white ivory ( $w^i$ ) 系：眼色が象牙色から赤色への変化（復帰型）を指標とする欠失型遺伝子突然変異検出系。標的遺伝子  $w^i$  を 4 個もつ高感受性ハエ〔( $w^i$ )<sub>4</sub>〕を用いると、代表的変異原 ENU, EMS, TEM, MMC と制癌剤 cis-Platinum などの遺伝子突然変異誘起能が容易に定量できた。変異の分子機構がわかっている将来有望な系。3) UZ 系：黄眼色から赤眼色への変化（復帰型）を指標とする遺伝子突然変異検出系。トランスポゾンが関係している。DNA 修復正常幼虫においては、Benzo (a) pyrene, 2AAF, UV による変異は、ほとんど修復されて検出されにくい事が、UZ 系と DNA 修復欠損変異を組合わせる事でわかった。これらのスポットテストは、①代謝活性化酵素は不要。②約 2 週間で完了する。③ DNA 修復欠損変異と組合せて使う事ができる。④突然変異のタイプが判定できる。⑤変異原の強さが定量的に求められる、等の長所をもつ。しかし、ハエで発癌をみる事はできないので、変異原の発癌力と変異力を直接比較できない。

S2

## マウス スポット テスト

一ツ町 晋也（武田薬品工業・中央研究所）

マウススポットテストは、L. B. Russell と M. H. Major によって考案された体細胞突然変異の検出系で、放射線を用いた研究に基づきづけられている。毛色に関する数個の劣性遺伝子がヘテロとなつたマウス胎仔に変異原を曝露し、生まれた仔の毛色を観察する方法をとる。対立遺伝子に突然変異が誘起された場合には、変異細胞由来のクローンが黒い毛色の中の変色斑（スポット）として観察される。

近年、化学物質の遺伝毒性が問題視されはじめると、このテストによって体細胞ながら遺伝子突然変異を *in vivo* で検出することができるため注目を集めようになつた。わが国でも、本学会の MMS 分科会 (Mammalian Mutagenicity Study Group) において、土川 (遺伝研) の育成した PW マウスを用いるスポットテストの共同研究が有志機関によって 1984 年から始められ、現在 11 機関が参加している。

本シンポジウムでは、マウススポットテストの実験方法を紹介し、これまでの実験成果を踏まえてその長所・短所等を述べ、話題提供としたい。

S 3

## マウス小核試験

林 真 ( 国立衛生試験所・変異原性部 )

現在広く用いられているマウス骨髄を用いる小核試験は Schmid らによって開発されたものであり、その後多くの研究者により改良が加えられてきた。

骨髄中の多染性赤血球に出現する小核は、赤芽球の分裂時の染色体異常や分裂装置の異常の結果として形成されるものである。

本シンポジウムでは以下に示す各点について問題点を考察し、話題提供をしたい。

- 1) 小核の生成機構…… 特に染色体異常との関係について(図参照)。

- ## 2) 実験動物の種差、系統差

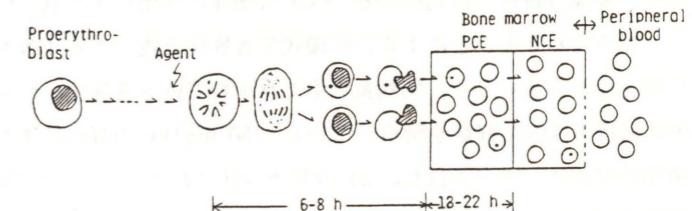
性差……特に JEMS・MMS  
分科会小核試験研究グループ  
による協同研究の成果につい  
て。

- 3) 標的臓器……骨髓(末梢血)、胎仔肝臓、脾臓、精巣等について。

- 4) 実験手技における問題点……  
特に投与経路、標本作製時期、  
染色法等について。

- 5) 他の細胞遺伝学的試験（染色体異常、SCE）との比較………  
小核試験の長所および短所について。

- 6) 試験の評価……国内外のガイドラインでの位置付けについて。



| Stage | Meta. | PCE  | NCE    | Aberrant cells(%) | Micro-nucleated PCE (%) |
|-------|-------|------|--------|-------------------|-------------------------|
| 1     | ○     | ○○○○ | ○○○○○○ | 0                 | 0                       |
| 2     | ○     | ○○○○ | ○○○○○○ | 40                | 0                       |
| 3     | ●     | ○○○○ | ○○○○○○ | 80                | 10                      |
| 4     | ○     | ●●●● | ○○○○○○ | 60                | 30                      |
| 5     | ○     | ○●●● | ○○○○○○ | 20                | 45                      |
| 6     | ○     | ○○●● | ○○○○○○ | 0                 | 50                      |
| 7     | ○     | ○○●● | ○○●●○○ | 0                 | 40                      |

小核赤血球の生成および小核を有する幼若赤血球 (MNPCE) が蓄積されてゆく過程を示す。

## S 4

### $^{32}\text{P}$ -ポストラベル法 — 環境化学物質-DNA 付加体の高感度検出法—

山下 克美 ( 国立がんセンター研究所・生化学部 )

環境中の化学物質の発がん性及びその臓器特異性を短期間で検索する目的で、われわれは  $^{32}\text{P}$ -ポストラベル法を用いて化学物質による生体内での DNA 修飾を検出している。この方法は、Randerath らによって開発されたもので、1) DNA の酵素的分解、2)  $\gamma$ - $^{32}\text{P}$ -ATP から 3'-モノヌクレオチドへの  $^{32}\text{P}$  の酵素的転移、3) 弱塩基性イオン交換薄層クロマトグラフィーを用いた正常ヌクレオチドの除去及びヌクレオチド付加体の二次元展開、4) オートラジオグラフィーによる付加体の検出、という過程からなる。正常ヌクレオチド  $10^9 \sim 10^{10}$  個に 1 個の付加体の検出が可能であり、多環芳香族化合物による DNA 付加体の検出にすぐれている。ODS 薄層クロマトグラフィーと組み合わせることにより、一環式芳香族化合物による DNA 付加体の検出も可能である。

現在この方法により、加熱食品中に含まれている変異原・がん原物質である MeIQx によるラットにおける DNA 修飾を解析している。50 mg/kg の経口的または腹腔内への 1 回投与により、2 種類の付加体が検出された。24 時間後の肝におけるこの二つの付加体のレベルは、それぞれ  $10^7$  及び  $10^8$  ヌクレオチドにつき 1 個であった。MeIQx は、ラットでは肝その他の臓器にがんを発生させるが、がん発生のみられなかった腎及び精巣においても付加体が検出された。従って、DNA 付加体を指標として発がんの臓器特異性を一回投与の実験のみから推測する事は困難と思われ、比較的長期の連続投与による付加体のレベルの変化等の検討が必要である。しかしながら、この方法では非常に高感度に DNA 付加体の検出が可能であるので、ヒトの発がん物質への暴露量測定による危険度評価への応用には非常に有用であると思われる。

## S 5

### 不定期 DNA 合成 ( UDS ) 法

降旗 千恵 ( 東京大学医科学研究所・癌生物学研究部 )

この方法は、化学物質または放射線照射によって誘導される DNA 損傷の、“切除修復”による修復 DNA 合成 ( 不定期 DNA 合成、UDS ) を検出する。UDS そのものは、“誤り”がなければ突然変異には繋がらないが、“誤り”があったり、“不完全修復”で“修復し残し”があると突然変異へと繋がる。UDS は、突然変異へ繋がる可能性のある DNA 損傷が誘導された指標として用いられている。

動物個体の場合には、化学物質が体内に入る際に、経路によって物質の到達する臓器、物質の吸収される細胞が限られてくる。さらに物質の代謝活性化、解毒、排泄など多くの要素が絡んでくる。それ故、細菌で変異原性が陽性となった物質が、動物個体で必ずしも陽性とは限らない。また陽性の場合にも、限られた臓器のみで陽性となる“臓器特異性”が生ずる。UDS はこの標的臓器を検索するのに適した方法である。

化学物質をラット ( マウス ) に、胃チューブ、腹腔内注射、注腸などで投与して、in vivo で作用させた後、目的とする臓器を取り出して、in vitro で  $[ ^3\text{H}]$  チミジン存在下に器官培養または細胞培養を行って、UDS を測定する。DNA への  $[ ^3\text{H}]$  チミジンの取り込みをオートラジオグラフィーまたは液体シンチレーションカウンターで測定する。

肝臓、腎臓、脾臓、上部呼吸器系、前胃、腺胃、大腸などで UDS 誘導と癌原物質の臓器特異性とがかなりよく一致することが明らかになり、この方法で潜在性癌原物質の検索が始ったところである。この方法は特定の臓器の潜在性癌原物質の検索や、癌原物質の類似化合物の潜在性癌原性の検索に有効であろう。しかし動物個体に対する癌原性の有無を検索するには、まだすべての臓器での方法が出揃っていないので、必ずしも適していない。

他の DNA 損傷測定法に比べて一度に多数の動物について試験できる点が強みである。

4

演

醤油と亜硝酸により生成する変異原性についてIII  
ラット胃内における亜硝酸ならび変異原性の消長  
○長原 歩、大下克典、那須野精一  
キッコーマン株式会社、生物科学研究所

(目的) 我々はこれまで通常の食生活においては醤油と亜硝酸により微生物に対する変異原性は出現し得ないことを報告した(1,2)。また、醤油と高濃度の亜硝酸を反応させた場合でも染色体異常試験ならび小核試験において変異原性を示さないことを報告してきた(3)。今回、我々はさらに生体内での醤油と亜硝酸による変異原性を調べるためにラットの摘出胃内ならび生体胃内での亜硝酸および変異原性の消長について検討を行った。

(実験法) SD系ラット、7週令、雄を用い摘出胃内投与群については胃を摘出後、噴門部と幽門部を結紩し醤油と各濃度の亜硝酸液を投与、pH3.0、37°C、60分間反応させた。また生体胃内投与群については麻酔下で開腹し噴門部と幽門部を結紩し同様の処理を行った。それぞれの胃内容物を取り出し残存亜硝酸測定用に一部分を分取後、ヌルワシ酸アンモニウムにより反応を停止し変異原性試験を行った。

(結果と考察)

① *In vitro* で高濃度(2300ppm)の亜硝酸と醤油をpH3.0で37°C、60分間反応させると亜硝酸は97%減少し、また微弱ながら変異原性が認められた。② 摘出胃内投与群について同上の条件で反応を行ったところ亜硝酸は①と同様97%減少したが、変異原性は①の26%しか出現しなかった。③ 生体胃内投与群についても同上の条件で反応を行ったところ亜硝酸は98%以上減少したが、変異原性は認められなかった。④ ①～③の実験でpHを酸性に調製しない場合(ラット胃内でのpH、約4.9)についても同様の検討を行ったところ、*In vitro*の場合でも変異原性はさらに弱く、また摘出胃内で①の12%、生体胃内では③同様変異原性は認められなかった。

以上の結果より、胃内投与された高濃度の亜硝酸は胃中より速やかに消失し、醤油中の変異原前駆体とは反応し得ず、変異原性を示さない事が確認された。

(1) *Fd Chem. Toxic.*, 24, 13-15, 1986

(2) 日本醤油研究所雑誌, 11, 149-153, 1985

(3) 日本環境変異原学会第14回大会要旨, 34, 1985

魚肉の加熱により生じる変異原物質  
○菊川清見、加藤哲太、後藤由美子、  
青野裕美、今井知子(東京薬大)

我々は、青錦法により、かつお節、さば節に MelQx および 4,8-DiMelQx が存在し、1-3) これらの変異原物質は、「ばい乾」工程で生成することを明らかにした。4) 今回、青錦法を用いて変異原物質を濃縮することによって、smoke-free の緩和な加熱を行なった魚肉中にもこれら変異原物質が生成することを明らかにした。

かつお、まぐろ、さば、さけ、めかじき、いわし、あじ、たら、いかをホットプレート上 220°、15分加熱した場合、熱湯抽出、青錦法により精製された変異原物質の活性は、*Salmonella typhimurium* TA98 +S9mix 系でそれぞれ、3320, 1300, 425, 259, 195, 158, 32, 0, 0 His<sup>+</sup> revertants/5g であった。加熱かつおの変異原物質は、TLC, HPLC による精製を行ない、HPLC の溶出時間、UV 吸収スペクトルおよび Mass スペクトルの結果から MelQx および 4,8-DiMelQx と同定された。他の加熱魚類に存在する主変異原物質も、加熱方法をかえてホットプレート上 100° で加熱または直火で焦げ目をつけて焼いた場合に生成する主変異原物質も、MelQx および 4,8-DiMelQx であった。加熱かつお(220°, 15 min) 中の変異原物質の含量を変異原活性から算出した結果、MelQx 5.2 ng/g, 4,8-DiMelQx 5.4 ng/g で、全活性の 55% 以上を占めた。これらの変異原物質の生成は、魚肉の水分の減少とともに上昇した。また魚肉の種類による変異原活性の相異を明らかにするため、クレアチン含量との関連についても検討した。

1) Kikugawa et al., *Mut. Res.*, 158, 35 (1985).

2) Idem, *Jpn. J. Cancer Res.*, 77, 99 (1986).

3) Kato et al., *J. Agr. Food Chem.*, in press.

4) Kikugawa et al., *Eiseikagaku*, in press.

加熱食品に含まれるニトロソ化変異原物質  
○若林敬二、矢野素子、長尾美奈子、  
杉村 隆(国立がんセンター・研究所・発がん研究部)

大豆醸酵食品、野菜、及び干し魚を亜硝酸処理すると直接変異原性が発現する。これら食品に含まれる、亜硝酸と反応して変異原性を示すニトロソ化変異原前駆物質としてチラミン、β-カルボリノン化合物及びインドール化合物を分離・同定した。さらに、チラミンの亜硝酸処理により生ずる変異原、3-ジアゾチラミン、に癌原性のあることも証明した。新しく、肉類の加熱によりニトロソ化変異原前駆物質が生成することを見出した。

各種加熱食品を 50% メタノールで抽出し、抽出物を 50 mM の NaNO<sub>2</sub> で、pH 3.0、37°C、1 時間処理し、生ずる変異原性をサルモネラ菌 TA100 を用い、S9 mix 非存在下で調べた。その結果、食品 1 gあたりにみとめられた復帰コロニー数は、焼いた丸干しイワシで 28,000、焼いた鶏肉で 9,900、焼いた牛肉で 1,900 であった。加熱調理前の丸干イワシの亜硝酸処理により生ずる変異原性は、加熱調理したもの約 1/10 であった。したがって、これら加熱食品中の変異原前駆物質は加熱処理により初めて生成するものと思われる。

次に、最も強い変異原性が認められた焼いた丸干しイワシに含まれる変異原前駆物質の分離・精製を、各種カラムクロマトグラフィーを用いて行った。その結果、主要な変異原前駆物質は、これまでに報告したものとは異なる変異原前駆物質であることがわかった。

胃癌による死亡率と焼魚の摂取回数との間には相関関係があることが示唆されている。したがって、焼魚に含まれるニトロソ化変異原前駆物質の構造解明は重要である。

(厚生省がん研究助成による。)

1-ニトロソインドール-3-アセトニトリルのラット胃に対する潜在性癌原活性  
○降旗千恵、佐藤裕子、松島泰次郎(東大・医科研・癌生物)

[目的] 若林らによって白菜から単離された変異原前駆体、インドール-3-アセトニトリル (IAN) をニトロソ化した変異原、1-ニトロソインドール-3-アセトニトリル (NIAN) のラット胃粘膜に対する潜在性発癌イニシエーター活性と潜在性発癌プロモーター活性とを *in vivo* 短期検索法によって検索した。

[方法] NIAN は、IAN 2 g と亜硝酸 Na 13.8 g とを pH 3 の水溶液中で 37°C 1 時間反応させ、析出した NIAN をろ過して集め、冷蒸留水で洗って調製した。1 群 5 頭の 7 週令 F344 雄ラットに、NIAN の DMSO 溶液 0.3 ml を胃チューブで投与した。胃幽門腺部粘膜を細切して器官培養し、DNA への <sup>3</sup>H チミジンの取り込みを、ヒドロキシウラ存在下(不定期 DNA 合成、UDS) と非存在下(総 DNA 合成、TDS) とで調べた。組織から DNA を抽出し、取り込まれた <sup>3</sup>H チミジンの放射能を、液体シンチレーションカウンターで定量した。また幽門腺部粘膜の粗抽出液を調製してオルニチン脱炭酸酵素 (ODC) 活性を調べた。

[結果] NIAN は、体重 1 kg 当り 300 mg 投与で、投与 2～4 時間後に見かけの UDS を誘導し、16 時間後を頂点として対照の約 10 倍の TDS の促進を示し、24 時間後を頂点として 100 倍以上の ODC 活性を誘導した。また各々体重 1 kg 当り 20～1000 mg で用量反応性を示した。

[結論] NIAN はラット胃粘膜に対して潜在性発癌プロモーター活性を示し、潜在性発癌イニシエーター活性をも持つ可能性が示唆された。

## 5

過酸化水素の変異原性の確認および  
食品中含量の測定とその評価

○西岡 一, 三枝 新, 米沢 さとみ, 曽谷 知弘,  
布柴 達男 (同志社大, 生化研)

生体内における活性酸素の細胞損傷の重要性が明らかとなり、食品などから生体内に摂取される過酸化物の、細胞中の各成分、特にDNAへの作用が注目される。中でも過酸化水素( $H_2O_2$ )は、生体内で還元されヒドロキシルラジカルを生成して、DNAに鎖切断、塩基損傷を生ずる事が知られ、動物で発ガン性が確認されている。その一方で、漂白剤、殺菌剤として食品の加工過程で使用され、また、自然に生成する場合もあって、生体内に摂取されている。

一方、 $H_2O_2$ の変異原性は、未だ明瞭には確認されていない。これは、微生物の復帰変異を指標とする従来の検出系が、 $H_2O_2$ の変異原性の安定的な検出に必ずしも適していないからと思われる。当研究室で開発した、大腸菌WP2uvrA/pKM101株の低濃度ストレプトマイシン(5  $\mu g/ml$ )抵抗性への前進変異を指標とする検出系は、 $H_2O_2$ など従来の方法では検出され難かった物質の変異原性を、安定的かつ高感度で検出する事が可能である。

今回の報告ではこの検出系を用いて、 $H_2O_2$ の変異原性およびそのレベルを確認すると共に、その量効果曲線を求めた。

又、市販されている各種の食品からドリンク剤、炭酸飲料、ジュース、ミルク、酒、ビール等の $H_2O_2$ 濃度を酸素電極法によって定量した。その結果、多数の試料から $H_2O_2$ が測定され、なかには数ppmを示すものもみられた。これらの結果から、日常生活で人体が食品から受ける $H_2O_2$ 負荷量を推定し、その影響度を考察する。

## 6

自動車排出ガスの変異原性(第5報)  
佐々木裕子, 遠藤立一, 福岡三郎,  
飯田靖雄, 舟島正直(都環境科学研)  
石井啓太郎, 坂本正徳(明治薬大)

ディーゼル車排出ガスについて、我々は、副室式ディーゼル車(台上試験), ディーゼル車専用トンネル(>95%)を用いて、その高い変異原性について報告してきた。今回、特に増加が著しい直噴式ディーゼルを用い、排出変異原性について検討したので、報告する。

54年規制、58年規制の2台の3.6ℓ直噴式ディーゼルエンジンを用い、エンジンダイナモーター上で定速駆動(40km/h)させた。排出ガスは風洞で希釈(5-7倍)し、排出ガス中粉じんを HI-VOL サンプラーを用いて、石英ろ紙上に捕集した。粉じんは、ベンゼン-エタノール(4:1, V/V)で超音波抽出し、溶媒を減圧留去して得た抽出物(タール)を検体とした。また、タールの一部は液々分配、カラムクロマトで分画し、高活性画分の精製を試みた。変異原性試験には、*S. typhimurium* TA100, TA98, TA98NR, TA98DNP株を用いて、Preincubation 法で行った。

直噴式ディーゼルエンジンは、副室式に比べ $NO_x$ が多いことが知られているが、変異原活性では、2台(TA100-S9; 70,000rev/km, 122,000rev/km)共、既報告の副室式ディーゼル車に比べ、やや高い結果が得られた。しかし、粉じん当たり(rev/mg)では、副室式ディーゼル車と変異原活性に差異はなく、直噴式の高い活性は、粉じん量に依存することが推測された。

次にTA98-S9に比べ、TA98NR, TA98DNP株では、各々26~69%, 15~18% 变異原活性の低下が認められた。採取時に、5 ppm 前後の $NO_2$ に曝露される点から、一部アーティファクトは考えられるが、ニトロアレンの存在が示唆された。

カラムクロマトによるタールの精製を繰り返した結果、同定には至らなかったが、フレームシフト型以外に高活性の塩基交換型直接変異原物質の存在が示唆された。

## 7

ジニトロフルオランテン(DNF)の突然  
変異誘発能とラット発がん性 : ○堀川和美<sup>1</sup>,  
乙藤武志<sup>1</sup>, 中川礼子<sup>1</sup>, 世良暢之<sup>1</sup>, 黒田行昭<sup>2</sup>, 大塚  
久<sup>3</sup>, 常盤寛<sup>1</sup> (1 福岡衛生センター, 2 国立遺伝研,  
3 徳島大・医)

DNFはフルオランテン( $C_{16}H_{10}$ )のジニトロ誘導体で環境中に分布している変異原物質である。すでにディーゼル排ガス、LPG燃焼物から検出したことを本学会で発表した。

3-ニトロフルオランテンをニトロ化すると、3,4-、3,7-、3,9-DNFが生成、分離されることは昨年の本学会で一部報告した。3,7-、3,9-3,4-DNFの*S. typhimurium* His<sup>r</sup>菌に対する変異原性(Rev./ng)はTA1538株に対してはそれぞれ43、105、1.5、TA98株に対してはそれぞれ422、355、15であった。この突然変異能は高変異原物質DNPに相当するものであった。

3,7-、3,9-DNFは枯草菌のDNA損傷テストについても0.02~0.05  $\mu g/disk$ の濃度でM45( $rec^{-}$ )株に対して強い致死感受性を示し、dose-dependentであった。一方、3,7-、3,9-DNFのチャイニーズハムスターV79細胞に対する変異原性は6TGを耐性マーカーとする弱いながら変異原性が認められた。両物質はDMSOに対する溶解性がわるいため、培養細胞に対する突然変異性は期待する結果が得られなかった。

一方、3,7-、3,9-DNFの各1mg量をF344ラットに皮下接種すると、最初の腫瘍発生は接種開始後3,9-DNFでは88日目、3,7-DNFでは155日目に認められた。接種開始後177日目までに、3,9-DNFでは11匹中9匹(81.8%)に、3,7-DNFでは21匹中15匹(71.4%)に皮下腫瘍が発生した。3,9-DNFで最初に発生した腫瘍は、組織学的に横紋筋肉腫であることがわかった。

## 8

クロムヒューム吸入曝露ラットの骨髓及び末梢  
血液リンパ球の染色体分析  
○奥 貴美子、芹田富美雄、猿渡雄彦、  
鈴木康友 (労働省産業医学総合研究所)

プラズマフレーム金属溶射装置を用い金属クロムから発生させたクロムヒューム、 $1.84 \pm 0.55 \text{ mg/m}^3$ 、1日5時間、5日間曝露ラット及び空気のみに曝露した対照ラットの曝露後、1日目、3日目、7日目、1ヶ月目と、 $0.55 \pm 0.07 \text{ mg/m}^3$ 、1日5時間、2ヶ月曝露ラット及び対照ラットの1日目、7日目、1ヶ月目の大腿骨骨髄細胞の染色体所見を検討すると共に、同じ時期に採取した末梢血液を、コンカナバリンAと共に培養し、培養リンパ球の染色体について、染色体数、構造異常所見及び姉妹染色分体交換(SCE)頻度について検討を行った。実験に用いた動物は何れも8週令の雄SDラットで1群5頭である。

骨髄細胞の染色構造異常出現頻度は、1週間曝露群、2ヶ月曝露群共に対照群との間に差がなかった。染色体数の変化も認められなかった。末梢血液リンパ球の染色体構造異常出現頻度は、曝露後の各時期の平均値において、両曝露群共に対照群に比較して増加の傾向にあり、曝露群では、染色分体切断、染色分体交換の所見が認められた。又、高頻度に染色体異常所見が認められる個体が曝露群に認められた。末梢血液リンパ球の染色体の数の異常は認められなかった。末梢血液リンパ球のSCE頻度の曝露後各時期の平均値は、1週間曝露群では増加が、2ヶ月曝露群では増加の傾向が認められ、高頻度のSCE頻度を示す動物個体の分布は、曝露群に偏って認められた。又、吸入曝露に用いたクロムヒュームは、in vitro でFM3A細胞に対して強い染色体異常誘起性を示した。

## 9

ショウジョウバエの $w^i$ 遺伝子四重複による変異原高感受度検出系の開発 (°梁治子)<sup>1</sup>・藤堂剛り・藤川和男<sup>2</sup>・M.M. GREEN<sup>3</sup>、り限大・医、<sup>2</sup>武田薬品・薬安研、<sup>3</sup>カルフオルニア大)

目的: 変異原による動物および処理試験法を、変異原のヒトへの危険度評価に役立てたい。このためには、変異原の高感受度検出系の開発をDNA修復能をもとこなうことではなく、なされるとべきである。そこで検出感受度を高める工夫を、変異の標的遺伝子数を増すことにより行つた。用いた標的遺伝子は $w^i$ 遺伝子であり、この系の突然変異は、象牙色眼色から赤眼色(野生型)への復帰変異として検出される。この $w^i$ 遺伝子を4個もつ( $w^i_4$ )ハエをつくり、四重複 $w^i$ ハエが、 $w^i$ ハエより変異感受性が高いかどうかをみた。結果: 体細胞( $w^i_4$ と $w^i$ 株)での誘発復帰変異頻度は、(体色スコット数/ハエ/ $mM$ またはラド)  $40 \times 10^3$ と  $4 \times 10^3$  (DEM),  $100 \times 10^3$ と  $3 \times 10^3$  (TEM),  $8 \times 10^3$ と  $4 \times 10^3$  (EMS),  $40 \times 10^3$ と  $4 \times 10^3$  (ENU),  $1.6 \times 10^5$ と  $0.26 \times 10^5$  (X線)とそれそれなつた。いずれも( $w^i_4$ 株)が $w^i$ 株に比して4倍前後の高感受性を示した。cis-Pt $1mM$ を( $w^i_4$ に与えた時は100%の変異率を示した。性細胞( $w^i_4$ と $w^i$ 株)の復帰変異率は、 $0.3 \times 10^3$ と  $< 0.3 \times 10^3$  (TEM $1mM$ ),  $1.5 \times 10^3$ と  $< 0.2 \times 10^3$  (ENU $2mM$ ) 精原細胞,  $0.6 \times 10^3$ と  $< 0.1 \times 10^3$  (DEM $5mM$ ),  $1.1 \times 10^3$ と  $0.58 \times 10^3$  (X線 $4mM$ ) 卵原細胞となり( $w^i_4$ 株)は $w^i$ 株の4倍以上の感受性となつた。復帰変異体のDNA分析 サザンブロット法によりDEM, ENU, TEMより得られた( $w^i_4$ 性細胞)の復帰変異体はいずれも4個の $w^i$ 遺伝子のひとつに変異がおきついた。DEM誘発体細胞突然変異は、性細胞の場合と同じDNA上の変異がみられた。まとめ: ( $w^i_4$ 系)は、体細胞と性細胞レベルで変異に高感受度であり、変異原の遺伝毒性の危険度の定量的評価に役立つ系であると示唆された。

## 10

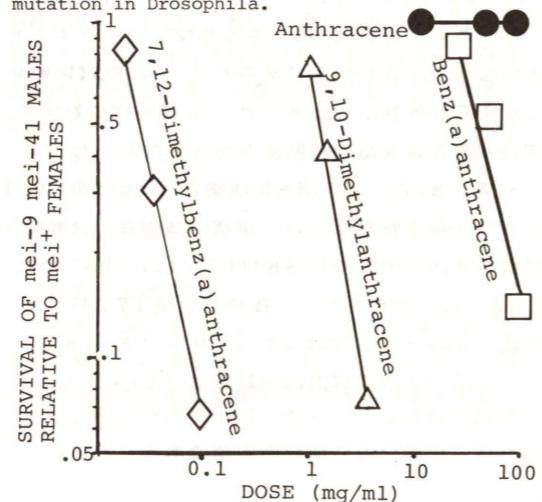
## Drosophila DNA Repair Test

Fort, F.<sup>1</sup>, O.K. Fujikawa<sup>2</sup> and Y. Kikuchi<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>Abbott Laboratories, North Chicago, Illinois,  
USA. <sup>2</sup>Takeda Chemical Ind., Ltd., Osaka, Japan

An in vivo DNA repair test using a double mutant strain (*mei-9<sup>a</sup> mei-41<sup>D5</sup>*) of *Drosophila melanogaster* was evaluated for sensitivities to known mutagens acting by a variety of mechanisms and known non-mutagens. The *mei* mutations are excision-repair and postreplication-repair defective, respectively. The double mutants were kept as males in stock together with repair-proficient attached-X females (both *mei-9* and *mei-41* being X-linked recessive mutations). Flies from this stock were exposed to test compounds at the 3rd larval instar. A dose-dependent decrease in the survival of repair-deficient male larvae relative to repair-proficient female larvae at doses non-toxic to repair-proficient flies was taken as an indication of DNA-damaging effect of the tested compound.

Our results indicate that compounds requiring metabolism in order to be active in mammals are also activated in *Drosophila* larvae. The test was clearly able to distinguish between mutagens and non-mutagens. In the pyrene, anthracene and fluorene series, closely related carcinogens and non-carcinogens were easily identified (e.g., see below). Furthermore, the dose responses obtained allowed an estimation of the potency of each carcinogen to be activated and form DNA damage.

We propose that the *Drosophila* DNA repair test would be useful for screening new compounds for possible mutagenicity and/or carcinogenicity and could serve as a complement to tests for somatic mutation in *Drosophila*.



## 11

Nuclear aberration assay (核異常試験)を用いた大腸がん原物質および補発がん物質の検索法の検討

鈴木邦夫<sup>1</sup>, 光岡知足<sup>1,2</sup>, W.R.Bruce<sup>3</sup>  
(<sup>1</sup>理化研, <sup>2</sup>東大農, <sup>3</sup>Ludwig Inst.  
Cancer Res., Toronto)

Heddleら(1982)はがん原物質検索のための新しいin vivo短期検出法としてNuclear aberration assay(核異常試験)を開発した。<sup>1,2)</sup>私どもはこの核異常試験を用いて大腸がん原物質および補発がん物質(carcinogen)を検索する方法を検討した。

発がん物質は2',3-dimethyl-4-aminobiphenyl(DMAB), benzo[a]pyrene(BaP)およびN-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG)を用いC57BL/6Jマウスの大腸内に投与した。補発がん物質の測定には1,2-dimethylhydrazine(DMH)の経口投与と同時にdeoxycholic acidの大腸内投与を行なつた。薬剤投与後、大腸を摘出し病理標本を作成して、上皮細胞核の異常すなわち小核、核濃縮、核崩壊および核融解を計数した。

大腸上皮細胞の核異常はDMAB, BaPおよびMNNGの投与量に比例して増加がみられた。薬物投与後の核異常は24時間後が最も高い値を示した。またDMH経口投与による大腸上皮の核異常はdeoxycholic acid処置によって著しく増幅された。

以上の結果から被検物質をマウスの大腸内に投与し、上皮細胞の核異常を計数する方法は大腸がん原物質のin vivo短期検出法として適当と思われた。また大腸がんの補発がん作用の測定にも応用できることが示された。

- 1) Heddle, J. A. et al., Banbury Report 13, 367-375 (1982)
- 2) Ronen, A. and Heddle, J. A., Cancer Res., 44, 1536-1540 (1984)

## 12

培養ヒトリソバ球における小核出現頻度と細胞分裂動態

○新川加奈子 森本兼麗 小泉明  
(東大・医・公衆衛生)

小核試験は、動物を使った簡単な変異原試験として多くの試験機関で行なわれているが、小核の出現と細胞分裂動態との関連性に関する基礎的知見は不十分であり、それらを解明するにはin vitro条件下での研究が有用であると考えられる。そこで、本研究では、ヒトリソバ球全血培養法により、2種類のDNA操作の異なる化学物質の出現動態などについて検討した。

用いた化学物質はDNA損傷物質としてマイトマイシンC(MMC)およびSpindle poison物質としてコルヒチンである。方法は、Heddle et al.(1976)の方法を基本としたが、ヒトリソバ球を用いたin vitro小核試験の報告は少なく、小核の判断基準、自然小核出現頻度などが統一されていないので、まず全培養時間に化学物質を作用させ、Dose-dependency, Time-dependency染色体構造異常出現頻度との関連性、Fuelgen染色との比較により誘発小核出現を確認した。

次に小核の出現と細胞分裂動態を解析するために、培養開始前に1時間化学物質を処理し、培養開始後、48時間目より6時間ごとに固定し、小核出現頻度を計数した。また、平行してBrdUを取りこんだ中期染色体分裂像を観察することにより、細胞分裂周期を考察した。これらのことより、小核は細胞分裂遅延にともない、出現頻度が変化すること、また出現後的小核の動態は、1回の分裂で消失するのではなく、主核の分裂とともに次の分裂まで残る小核が多くあることが示唆された。また、コルヒチン処理群のみに、1つの主核に附随する小核の数が2個以上である細胞(多小核細胞)が観察され、小核の形成、細胞分裂動態機序がMMC処理群とコルヒチン処理群で異なることが示された。

## 13

培養細胞における細胞分裂阻止法を用いた  
小核試験の検討

○若田明裕<sup>1)</sup>、佐々木正夫<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup>山之内製薬株式会社中央研究所、<sup>2)</sup>京都大学放射線生物研究センター)

小核の形成は、染色体の構造異常や分離異常の結果の表現と考えられ、その分折が比較的簡単であることから小核試験として変異原性の検出に広く用いられている。しかし、その発現には細胞（核）の分裂が必要であり、一般に観察細胞集団に占める、分裂を一回経過した細胞の割合が不明であることが小核試験の定量性の欠点となっている。多くの改良法が試みられてきたが、最近、Fender and Merley (1985) によりヒトのリンパ球培養を用いたCytchalasin B (Cyt-B) により細胞分裂を阻止し、2核細胞で小核を測定する方法が報告された。我々はこの方法をより一般的なin vitro小核試験に応用するようチャイニーズハムスター培養細胞 (CHL) を用いて検討した。

先ず、Cyt-Bの最適濃度および最適処理時間を決定し、それに基づきマイトイシンC (MMC) 、カフェイン (CA) およびコルセミド (COL) について、小核の頻度および染色体異常の出現頻度と作用濃度との関係を調べた。2核細胞中の小核の頻度は濃度に従って上昇し、少なくとも使用濃度範囲では飽和や逆に低下する現象は認められなかった。染色体の構造異常と小核の頻度を比較すると、MMC、CAの場合、染色体断片の約30%が小核を形成すると推定された。また、小核の大きさの分布の比較から、未処理の培養での小核、すなわちbackgroundとして現われる小核は主として異常核分裂を反映していることが示唆された。

## 14

## スポットテストにおける系統差

○板垣佳明、古橋忠和、須藤鎮世（野村生物科学研究所）

土川 清（国立遺伝学研究所）

本研究はJEMS哺乳動物試験分科会のスポットテスト共同研究の一環として行われた。使用動物は雌はコンジェニックマウス B<sub>10</sub>A (H-2<sup>a</sup>, 10~13週齢交配) および B<sub>10</sub>D<sub>2</sub> (H-2<sup>d</sup>, 10~14週齢交配)、雄は DW/a (H-2<sup>b</sup>, B<sub>10</sub>A と 10~13週齢, B<sub>10</sub>D<sub>2</sub> と 17~21週齢交配) で、静動協より購入した。週7日間夜間のみ 1:1 で交配し、腔栓を認めた日を 0.5 日とし、10.5 日目にリン酸緩衝液（対照）、25または 50mg/kg の N-ethyl-N-nitrosourea を腹腔内に投与した。生後約 4 週目に仔のスポットを観察した。

交尾率、妊娠率、出生数/雌は検体投与による影響が少なく、B<sub>10</sub>A 全平均でそれぞれ 87.0%, 70.2%, 9.0 仔、B<sub>10</sub>D<sub>2</sub> で 62.0%, 76.3%, 8.2 仔であった。哺育率も B<sub>10</sub>A の方が若干優れていたので、仔数を多く得る目的には B<sub>10</sub>A の方が優れていた。外型異常は B<sub>10</sub>A および B<sub>10</sub>D<sub>2</sub> ともに 50mg/kg の投与で初めて顕著に出現したが、曲尾は B<sub>10</sub>A に多く、多趾および内反足はほぼ同等の出現率であった（表 1）。劣性ホモにより出現するスポット (RS) は B<sub>10</sub>A では用量の増加に伴いほぼ直線的に増加したが、B<sub>10</sub>D<sub>2</sub> では 25mg/kg で B<sub>10</sub>A の 50mg/kg の場合より高い頻度で現れ、50mg/kg では頭うちの傾向を示した（表 1）。B<sub>10</sub>A に比べ B<sub>10</sub>D<sub>2</sub> では用量の増加に伴い仔の平均体重の低下傾向が著明であり、毒性の発現も強く現れた。

表 1 試験結果

| 系統                             | 投与量<br>(mg/kg) | 外型異常仔数 (0日) |     |      | スポット仔数 (28日) |     |      |
|--------------------------------|----------------|-------------|-----|------|--------------|-----|------|
|                                |                | 仔数          | 多趾  | 内反足  | 曲尾           | 仔数  | WHVS |
|                                |                | (%)         | (%) | (%)  | (%)          | (%) | (%)  |
| B <sub>10</sub> A              | 0              | 176         | 0   | 0    | 0            | 171 | 1.2  |
|                                | 25             | 201         | 1.0 | 0    | 0            | 180 | 5.0  |
|                                | 50             | 215         | 2.8 | 14.0 | 10.2         | 160 | 15.6 |
| B <sub>10</sub> D <sub>2</sub> | 0              | 184         | 0   | 0    | 0.5          | 153 | 2.0  |
|                                | 25             | 185         | 1.1 | 0    | 0            | 153 | 2.6  |
|                                | 50             | 213         | 2.9 | 11.3 | 2.9          | 151 | 9.3  |

## 15

マウス スポット テストにおける  
感度の系統差

土川 清（国立遺伝学研究所）

JEMS哺乳動物試験分科会の共同研究において、PW系統の雄マウスを用いるスポットテストを効率よく遂行するため、交配に使用する雌マウスの系統について検討されている。その過程において、スポットテストの感度が用いる雌の系統によって異なることが認められた。

すなわち土川が確立した近交系 KYG (a/a B/B C P / C P D S e / D S e / s ) 雌と、PW (a/a t / & c<sup>hp</sup> / c<sup>hp</sup> d s e / d s e / S / S )

雄との交配による F<sub>1</sub> 胎仔の色素細胞に対して、妊娠 10.5 日の母体に ethyl nitrosourea (ENU) を注射して作用させた場合、C57BL/6 雌を用いたときよりも、体細胞突然変異の指標である異色斑 (RS) の出現頻度が、約 2 倍の高率で検出され、3.125mg/kg の低投与量でも溶媒对照群と比べて RS の有意な増加を認めた。用量作用効果の関係も、C57BL/6 雌を交配に用いた場合と異なって、投与量が 0~12.5mg/kg までは RS の頻度が直線的に増加するが、25~50mg/kg の高投与量では、その直線よりも低い頻度を示した。

他方、細胞死の指標である腹側正中附近に現れる白斑 (WMVS) の頻度は、25~50mg/kg 投与群では著しく高率になる。従って高投与量群では、細胞死の増加に伴って RS の検出率が低下したものと考えられる。WMVS の頻度は C57BL/6 よりも KYG 雌との交配による胎仔の色素細胞は、ENU に対してより感受性が高いと見える。なお同じ遺伝子座を対象にした、マウスの精原細胞に対する ENU の特定遺伝子座試験の結果では、用量作用効果が S 字型の曲線になり、低用量域では修復機構が働ききるけれども、スポットテストの結果ではそれが認められない。従って体細胞はそれだけ感度がよいことになる。

## 16

## Norharman と rat 肝 S 9 存在下における

## Nitrobenzene誘導体の変異原性発現機構

○鈴木潤三、高橋直樹、西村孝、鈴木静夫（東京理科大、薬）

【目的】環境変異原として注目されている芳香族二トロ化合物は普通 *S. typhimurium* に対し直接変異原性を示すが、Nitrobenzene誘導体だけは変異原性発現に Norharman (NH) と rat 肝 S 9 を必要とし、特にオルト置換誘導体に強い変異原性が発現することを既に著者らは明らかにしている。本研究では、Nitrobenzene (NB) と o-Chloronitrobenzene (o-CNB) について、その変異原性発現に試験菌の菌体内 Nitroreductase と S 9 とがどのように関与しているのかを検討した。

【方法】変異原性試験は *S. typhimurium* TA 98, TA 98 NR と PCB, Phenobarbital (PB), 3-Methylcholanthrene (3-MC) で各々酵素誘導した rat 肝 S 9 を用い、矢作等の Preincubation 法によった。NB および o-CNB の S 9 mix 及び各菌の Cell-free extract (CFE) による代謝は HPLC (ODS カラム；溶媒、MeOH - CH<sub>3</sub>CN - 水系) によった。

【結果、考察】NB および o-CNB は S 9 mix と NH 存在下 TA 98 に対しては強い変異原性を示したが、TA 98 NR に対しては殆ど活性を示さず、一方 Phenylhydroxylamine (PHA) と o-Chlorophenylhydroxylamine (o-CPHA) は TA 98, TA 98 NR に対してほぼ同等の変異原性を示した。NB と o-CNB は TA 98 の CFE mix による代謝では、PHA, o-CPHA を生成したが、TA 98 NR の CFE mix、及び S 9 mix との incubate ではその生成は殆ど認められなかった。これらのことから変異原性発現に必須な、NB、及び o-CNB からそれぞれの Hydroxylamine への代謝は菌の Nitroreductase に依存しており、S 9 は Hydroxylamine の生成には殆ど関与していないものと結論した。そこで変異原性発現における S 9 の役割を知るために、NB の S 9 代謝物を詳細に検討したところ、NH 不在下では少量の m-Nitrophenol (m-NP) と p-NP が生成するが、NH の添加によって NP の生成が完全に阻害される事が明らかとなった。またこの代謝活性化に対する各種誘導剤の影響を検討したところ、変異原性発現は PB 誘導で最も高く、PCB、3-MC の順であり、NP の生成 (NH 不在下) は PB, PCB 誘導がほぼ同等で、3-MC よりも高かった。これらの事実から、本代謝活性化においては Cytochrome P450 による芳香環の酸化が重要なステップとなっており、NH はこれを何等かの形で修飾しているものと推測された。

17 癌原性多環芳香族炭化水素に対する  
Sudan IIIの解毒促進効果  
○柳井泰宏、藤田正一、鈴木徳治（千葉大・薬）

先に我々は口紅等に使用される脂溶性アゾ色素 Sudan III が P-448 からびに抱合酵素を誘導し、これらが Benzo(a)pyrene 等の変異原性を左右することを報告した。また Huggins らは 7,12-Dimethylbenz(a)-anthracene (DMBA) による化癌原性がラットでの色素アゾ前处理することにより予防されると報告している。そこで Ames 法を用いてこの発癌抑制機構を酵素誘導の立場から説明することを試みた。

まず、無処理及び Sudan III 前処理したラットより得た肝 S-9 分画を用いて Ames 法を行ったところ Sudan III 前処理により DMBA の変異原性は著しく上昇した。この系にグルクロロン酸抱合、硫酸抱合の各補酵素である UDPGA、PAPS を添加すると、UDPGA 添加により変異原性は減少し、PAPS 添加により増加した。また、このうち前者は Sudan III 前処理により促進され、後者は抑制された。このことから、Sudan III 前処理では、誘導された P-448 により Control 以上の活性代謝物が生成されるが、これらは同時に誘導される抱合酵素によりやがて解毒されることが示された。

次に、無処理及び Sudan III 前処理したラットに DMBA (50mg/kg) を腹腔内より投与し、経時的に採血を行った。得られたサンプルからは S-9 (+) のみで変異原性が検出され、時間に対してほぼ Exponential に減少した。Sudan III 前処理では Control に比べ低い値を示し、この差は時間推移に従い顕著になった。このことは、誘導による代謝活性の上昇が実際のラット体内において活性代謝物の増加ではなく解毒に反映していることを示すものと言える。以上の結果より、Sudan III 前処理による癌予防が、DMBA の代謝促進によって消失促進によるものであることが示された。

18 I Q の活性中間体、N-ヒドロキシ-I Q の酵素的活性化  
○真部俊一、山添康、加藤隆一（慶應大・医）

演者らは、加熱食品中の変異・癌原性複素環芳香族アミンがミクロゾーム中のチトクローム P-450 による N-水酸化により活性化されることを明らかにした。これら N-水酸化体は細胞内でさらに代謝的活性化を受け、DNA 等の生体高分子を損傷すると考えられ、既に演者らは、Trp-P-2 や Glu-P-1 の N-水酸化体が、肝の可溶性画分に存在する O-アセチル化酵素やプロリル-tRNA 合成酵素によって活性化されることを明らかにしてきた。今回は、IQ の芳香環トリチウムラベル体および相当する N-水酸化体（以下 N-OH-IQ と記す）を合成し、その代謝活性化への上記アシル化反応と、新たに硫酸抱合反応の関与を検討した。

ラット肝可溶性画分とアセチル化、アミノアシル化、硫酸エステル化反応に対する co-factor としてそれぞれ AcCoA、ATP（含ブロリン）PAPS を用い、N-OH-Glu-P-1 および N-OH-IQ の DNA への結合量を調べた。

その結果、中性条件下 N-OH-IQ は非酵素的にも DNA に結合したが、肝可溶性画分と AcCoA、ATP、PAPS を添加することによって、DNA への結合は促進された。同一条件下、N-OH-IQ は N-OH-Glu-P-1 と比べてアセチル化による活性化はそれほど強くなかったがアミノアシル化（N-OH-Glu-P-1 では認められなかった）、硫酸エステル化による活性化も認められ、生体内での代謝的活性化には少なくとも 3 種の経路が関与していることが示唆された。また、アセチルおよび硫酸エステル転移酵素の阻害剤である PCP の添加により、上記 3 種の活性化による DNA への結合はいずれも阻害された。

19  $Fe^{2+}-H_2O_2$  による N-ニトロソアミンの活性化：○島田浩美、菊一園子、早津彦哉（岡山大・薬）

N-ニトロソアミンはチトクローム P-450 依存性の薬物代謝酵素系により代謝活性化されることが知られている。しかし P-450 が、どのような酸素原子の活性種を生じ、これにより N-ニトロソアミンを酸化活性化するかについてはまだ明確ではない。そこで我々は、酸化試薬であるニッケル-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 混合液 (Fenton 試薬) 存在下での N-ニトロソアミンの変異原性を調べ、S-9 存在下での変異原性と比較検討した。

[方法] N-ニトロソアミンに、FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (5 mol:3 mol) を加え、0.1M リン酸緩衝溶液 pH 7.4 とする。これに菌液を加え直接アレート法で変異原性を調べた。

[結果・考察] *S. typhimurium* TA100, TA1535、及び *E. coli* WP2 で突然変異が見られた。NMOR 12 μmol に FeSO<sub>4</sub> 9.8 μmol と H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 6 μmol を添加した場合では TA100 で 870 revertants が検出された。等量の NMOR にラット S-9 を 100 μl 加え、アレインキュベーションを 40 分間行なった場合には、1540 revertants であった。NDMA はどちらの方法でも活性は弱く、調べた 12 種類の N-ニトロソアミンの Fenton 試薬存在下での変異原性の有無は、S-9 存在下でのそれとほぼ一致した。Fenton 試薬は次式により酸化力の強い OH を生成する。 $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH + OH^-$  一方で、Fenton 試薬による N-ニトロソアミンの変異原性発現は OH スカベンジャーであるシステインや安息香酸で抑制されることを確認している。以上のことより、N-ニトロソアミンの代謝活性化を担う活性種の一つは OH であることが考えられ、また生体内で生成した OH によって直接 N-ニトロソアミンが活性化される可能性が指摘された。

20 生体内成分による変異原の非酵素的活性化  
○有元佐賀恵、早津彦哉（岡山大・薬）

Trp-P-2 など多くの変異原は、薬物代謝酵素 P-450 により代謝活性化されて変異原性を発現する。一方、ヘムタンパク、特に筋肉組織に存在するミオグロビンは過酸化水素により活性化されて、脂質過酸化を起こすことが知られている。また、過酸化水素は好気性細胞中、常に低濃度存在することが知られている。そこで今回、ミオグロビンと過酸化水素により、P-450 非存在下でも変異原物質の活性化が起きるのではないかと考え、検討したので報告する。

Trp-P-2 をミオグロビンと過酸化水素の存在下、サルモネラ菌 TA98 とインキュベーションしたところ突然変異が検出された。この系からミオグロビンあるいは過酸化水素を除くと、この現象は見られなかった。さらに、反応液に過酸化水素を追加してゆくと変異コロニーが増加した。

IQ も同様にミオグロビンと過酸化水素により活性化された。

既に我々はミオグロビンが Trp-P-2 の代謝活性化体 N-OH-Trp-P-2 を分解することを報告した。

従って、今回の結果と合わせて、生体内において、薬物代謝酵素 P-450 が存在しない部位においても、Trp-P-2 の活性化と活性化体の分解というターンオーバーの起きている可能性のあることが分かった。

## 21

1-nitropyreneの生体内代謝：胆汁中の1-nitropyrene-4,5-oxideのグルタチオン抱合体について  
○木内武美、西藤佳子、大西克成（徳島大・医・細菌）

我々は1-nitropyrene (1-NP) の生体内代謝について研究し、代謝経路を推定した。しかし、代謝産物として同定したのは、グルクロン酸および硫酸抱合体であった。今回はグルタチオン (GSH) 抱合体について検討し、1-NP-4,5-oxideの GSH 抱合体を胆汁中に検出したので報告する。

GSH 抱合体の基質として1-NP-oxidesを合成し、HPLCで精製した。1-NP-4,5-oxideおよび1-NP-9,10-oxideの変異原性は nmol当り、TA98 (-)S9で 413, 324； TA98 (+)S9で 735, 22； TA100 (-)S9で 1060, 476； TA100 (+)S9で 112, 13； TA98NR (-)S9で 76, 95； TA98/1,8-DNP<sub>6</sub> (-)S9で 175, 362 であった。これら化合物の GSH 存在下でのTA98株 (+)S9に対する変異原性は、それぞれ GSH 無添加時の 20% および 63% に減少した。

雄Wistarラットに [<sup>3</sup>H]1-NP 30 μmol を経口投与して得た胆汁を HPLCで分画すると、8 個のピーク A～H が観察された。それぞれのピークを分取し、 $\beta$ -glucuronidase, arylsulfatase および  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase ( $\gamma$ GTP) を作用させた。その結果、ピーク G は 1-NP-4,5-dihydrodiol のグルクロン酸抱合体が大部分を占め、ピーク H は 1-nitro-3-hydroxypyrene (1-N-3-HP) および 1-N-6/8-HP のグルクロン酸抱合体が主であり、さらに少量の硫酸抱合体を含んでいた。0～6 hr 胆汁中のグルクロン酸抱合体は 30.6%、硫酸抱合体は 2.7% であった。 $\gamma$ GTP 处理によりピークの HPLC 保持時間が変化したものが C, D, F であり、これら画分は GSH 抱合体であると考えた。これら画分で、胆汁中の 22.3% を占めた。

1-NP-4,5-oxide を GSH 存在下でラット肝サイトゾル画分と保温すると GSH 抱合体が形成され、そのHPLC 保持時間が、ピーク F と一致した。また  $\gamma$ GTP 处理後のHPLC 分析でも保持時間が一致したことからピーク F は 1-NP-4,5-oxide の GSH 抱合体であると同定した。このピークは胆汁中の 9.6%を占めた。1-NP-9,10-oxide の GSH 抱合体と一致する大きなピークは胆汁中には検出されなかった。

（今回の研究は、Dr.E.K.Fifer と Dr.F.A.Beland との共同研究である。）

## 22

ニトロアレン類の細胞内代謝活性化に関与する *Salmonella typhimurium* 酶遺伝子の分子クローニング

○渡辺雅彦、能美健彦、石館 基  
(国立衛生試験所 変異原性)

【目的】環境汚染物質として知られるニトロアレンは、細胞内代謝活性化により変異原性、発癌性を示すものと考えられている。我々はサルモネラから、これら代謝活性化に関与すると考えられるニトロ還元酵素、アセチル転移酵素のクローニングを試み、得られたクローンについて検討した。

【方法】*S.typhimurium* TA1538 DNAをSau3AIで部分分解し、pBR322に組み込み遺伝子ライブラリーを作製した。これを用いてTA1538NR, TA1538/1,8-DNPを形質転換し、2-ニトロフルオレンに対する致死感受性をみることでスクリーニングした。得られたクローン株について、Ames試験および酵素活性測定を行った。

【結果】TA1538NRを宿主とする約2500個の形質転換コロニーから、ニトロ還元酵素産生能の回復した2つのクローン株を得た。その一つは、親株 (TA1538) に対し約50倍の酵素活性を示し、Ames試験においても、2-ニトロフルオレンに対する感受性が数倍上昇した。もう一つのクローン株は、酵素活性、Ames試験における感受性とも、親株と同等であった。TA1538/1,8-DNPを宿主とする約10000個の形質転換コロニーから、ジニトロビレンを用いたAmes試験で親株の10倍以上の感受性を示す4つのクローン株を得た。特に感受性の高い2株の、2-アミノフルオレンおよびイソニアジドに対するN-アセチル転移活性は、親株の10倍程度であった。

上記クローン株は、ニトロアレン類に対する高感受性株として極めて有用である。

## 23

Quercetinの2-AAFに対する変異原性

性増強効果について

○小川俊次郎<sup>a)</sup>, 平山晃久<sup>b)</sup>, 徳田光男<sup>a)</sup>, 平井邦夫<sup>a)</sup>, 福井昭三<sup>b)</sup> (京都薬科大学, 環衛, 衛生)

Quercetin (Q) は発癌性物質や変異原性物質に対する抑制又は増強効果を有するラボノイドとして知られている。著者らは Q が2-AAF の変異原性に及ぼす影響を中心に検討し、Q の効果及び作用機作について若干の知見を得たので報告する。

サルモネラ菌 TA98 及び TA100 を用い、PCB で誘導したラット肝由来の S9 mix 存在下、2-AAF 及びその代謝物である N-Hydroxy-2-AAF (NHA), 2-AF 及び N-Acetoxy-2-AAF (NAAAF) に対する Q の効果を調べた。又、HPLC を用いた反応混合液中の 2-AAF 及び代謝生成物の定量と、Cramerらの方法による水酸化活性の測定を行った。

2-AAF (22.4 nmol/plate) に対し、その量ではそれ自身変異原性を示さない等モルの Q を添加した時、TA98 では 2-AAF の変異原性が約 7 倍に増強された。至適 S9 濃度は 20% であった。同様の傾向は TA100 でも認められた。Q の添加により 2-AAF の総代謝は 78% に低下し、又、芳香環水酸化活性も低下した。一方、NHA と 2-AF の生成量は各々約 6 倍及び 2 倍に増加した。これらの代謝物、NHA、2-AF 並びに NAAAF の TA98 に対する変異原性は Q の添加により各々 3.3, 3.2 及び 4.0 倍に増大し、Q は代謝物に対しても増強的に作用した。

以上の結果から、Q の添加は、2-AAF の主代謝経路である芳香環水酸化を阻害し基質の不活性化を妨げると共に、活性化経路である N-水酸化を促進し活性代謝物の生成量を増加させ、これが 2-AAF の変異原性を増強させる主要因と考えた。

他のラボノイドの 2-AAF に対する変異原性増強効果も検討した結果、3 及び 5 位の OH 基と C<sub>2</sub> - C<sub>3</sub> の二重結合の存在の重要性が示唆された。

## 24

シヤトルベクターによるマウス培養細胞の突然変異解析

○加藤武司、石井裕、池畠広伸、今井幸子、大阪大学・医・歯基。

突然変異の突然変異特異性は、突然変異誘発機構を知るうえで重要な情報を提供する。原核細胞では、突然変異特異性を DNA 塩基配列の変化として同定する系が確立され有用なデータが蓄積されてゐる。真核細胞では、同じレベルでのデータはほとんど得られていない。我々は、真核細胞での突然変異生成機構を用いて解析法として、シヤトルベクターを用いたマウス培養細胞でのマーカー遺伝子に生じた突然変異を詳細に解析する系を確立してみた。その概要を報告する。

シヤトルベクターは、レトロウイルスをベースとして pZIPSV にヒト Hprt 遺伝子を C-DNA を解剖用マーカーとして挿入したものを用いる。マウス BALB 3T3 の Hprt<sup>+</sup> 細胞 (2TG0R) にベクター-DNA を感染させ、染色体は安定に組み込まれた細胞クローンを選択した (2TG0R/pZIPPHprt)。Hprt<sup>+</sup> から Hprt<sup>-</sup> 突然変異細胞は HATR → 6TG<sup>R</sup> の形質変化によって容易に検出できる。また Hprt<sup>-</sup> 突然変異細胞から遺伝子回復は、COS 細胞との融合によって回復する。Hprt<sup>-</sup> 突然変異細胞は大腸菌で増殖して DNA 塩基配列を調べられる。

現在この系を用いて、自然誘発と X 線誘発の突然変異スクリーニングを目的に、誘発された Hprt<sup>-</sup> 突然変異細胞を子細胞で増殖して DNA 塩基配列を調べる。

## 25

Glu-P-1 および 4NQO による DNA の化学修飾が癌遺伝子の活性化を惹き起こすことの証明: DNA 化学修飾は癌化の直接原因である  
首藤紘一, 橋本祐一, 河内恵美子 (東大・薬)  
閑谷剛男 (国立がんセ・研)

Glu-P-1 および 4NQO はいずれも変異原性・発癌性化合物であり、前者は加熱調理食品中に広く分布すると考えられる環境変異原である。Glu-P-1 は生体内で代謝活性化を受けた後に DNA を化学修飾し、生ずる修飾核酸の構造も決定した。4-NQO による核酸修飾の過程も明らかになっている。この DNA の化学修飾が細胞癌化の原因となることを直接的に証明するためにヒトの腫瘍遺伝子 H-ras を用いた実験を行った。ヒト正常細胞由来のプロト-H-ras は NIH3T3 のトランسفォーメーションに関して非活性であるが特定の点突然変異により癌原性を獲得する。このプロト-H-ras を組み込んだプラスミド pSVMBras-gpt に対して化学的に Glu-P-1 もしくは 4NQO を結合させ、得られる修飾遺伝子を NIH3T3 にトランسفクトしたところ、DNA 1  $\mu$ g 当たりにそれぞれ 0.15 個および 0.30 個のフォーカス形成能を確認した。生じたトランسفォーメントからゲノミック DNA を調製し、サザーン法によりヒト H-ras の組み込みを確認した後に再び NIH3T3 にトランسفクトした。0.04 ~ 0.07 foci/ $\mu$ g DNA のフォーカス形成能が認められた。トランسفォーメーション活性を獲得したヒト-プロト-H-ras の一部は制限加水分解酵素 Msp I による加水分解実験により、11 ~ 12 番目のコドンに突然変異を生じていることがわかった。

以上の結果、細胞癌化の過程の一部を化学的に再現し、Glu-P-1 や 4NQO による DNA の化学修飾が ras 遺伝子の活性化の直接の原因であることを証明した。

## 26

N-OH-Trp-P-2 による FM3A 細胞内 DNA の鎖切断とその修復機構  
○綿矢有祐、奥畑優子、大塚泰治、吉岡晃子、平本一幸、根岸和雄、早津彦哉 (岡山大・薬)

発がん性ヘテロサイクリックアミン Trp-P-2 は代謝活性化されて N-OH-Trp-P-2 を生成する。In vitro の実験で N-OH-Trp-P-2 は、マウス乳がん由来 FM3A 細胞の DNA 鎖切断を引き起こした。<sup>1)</sup> 今回、この N-OH-Trp-P-2 による細胞内 DNA 鎖切断の性格、及びその修復機構に関する検討したので報告する。

[方法] <sup>3</sup>C-4ミジンで DNA をラベルした FM3A 細胞を PBS に懸濁し、N-OH-Trp-P-2 を 37°C で 30 分間作用させた。DNA 鎖切断は neutral 及び alkaline elution methods を用いて assay した。  
[結果] FM3A 細胞を N-OH-Trp-P-2 の存在下で 37°C, 30 分間インキュベートすることにより、DNA 一本鎖切断が特異的に起こった。この DNA 一本鎖切断は  $\gamma$  線照射時と異なり、N-OH-Trp-P-2 处理後 fresh medium 中で 16 時間インキュベートしても切斷の 60% は未修復のまま残存した。また FM3A 細胞を N-OH-Trp-P-2 で処理し、次いで  $\gamma$  線照射を行うと、相加的な DNA 鎖切断が観察された。さらにこの細胞を fresh medium 中で 2 時間インキュベートすると、 $\gamma$  線照射による DNA 一本鎖切断に相当する割合の修復のみが起った。未修復のまま残存する DNA に対する傷害が Trp-P-2 の発がん性に関係があるのではないかと考えられる。

1) Wakata *et al.* Cancer Res. 45 5867 (1985)

## 27

In vivo マウス細胞 DNA 塩基のアルキル化とその修復 —マウススポットテストと小核試験の複合投与による解析— 濱谷 徹<sup>1)</sup>・山上 康<sup>2)</sup>・宮前陽一<sup>3)</sup>・酒井芳紀<sup>4)</sup>・原 巧<sup>1)</sup>・土川 清<sup>5)</sup>

1) 食品薬品安全センター秦野研究所 2) 北興化学工業開発研究所 3) 藤沢薬品工業中央研究所 4) 小野薬品工業福井安全性研究所 5) 国立遺伝学研究所

DNA 塩基のアルキル化とその修復は突然変異や発癌を考える上で重要である。演者らはこれまでにマウススポットテスト (MST) を Methylnitrosourea (MNU) と Ethylnitrosourea (ENU) の複合投与によって行い、MNU と ENU の変異原性の増強効果が明らかに認められることを報告した。すなわち複合投与によって劣性色素斑と外表奇形 (MNU による水頭症および ENU による多指症) が単独投与に比べて著しく増加することを認めた。

このことはこの実験系では MNU と ENU による DNA 塩基のアルキル化とその修復が同じプロセスにあることおよび、低濃度の MNU または ENU によるアルキル化は修復されていることを示唆するものである。

今回これらの知見をさらに明確にするため MNU と ENU の投与順序を逆にした MST と MNU と ENU の投与順序を変えた小核試験 (MN) を行った。その結果 MST では MNU と ENU の投与順序を逆にしても複合効果は前回と同様に認められた。また MN においてはどちらを先に投与しても同様の複合効果が認められた。これらの結果は上記の推測を更に支持するものと考えられる。

(この研究のデータの一部は MMS 研究会スポットテスト研究グループの共同研究のものを使用した。またこの研究は厚生科学研究所費補助研究事業によって実施された。)

## 28

プロリンによる発癌予防の可能性  
徳植信行、熊井淑子、○宮崎博之、山口俊平、楠慎一郎、(株)アドバンス・生命科学研究所

生体内で生成される H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> や N-ニトロソアミン類は生物にとって何らかの意味を持つと考えてよいが、発癌原因物質でもある。食品等に含有される脂肪族二級アミンと亜硝酸塩により反応生成されるニトロソアミン類は、主に肝癌を発生させる強力な発癌作用を有することからその生成抑制を考慮する事は発癌リスクを減じる点で公衆衛生面から極めて意義深いことである。そこで、アミノ酸であるプロリンが、脂肪族二級アミンに優先して胃内条件下で亜硝酸塩と反応して非発癌性のニトロソプロリンとなり、速やかに尿中に排泄されることから以下の実験を行った。

試験管内でジメチルアミン (A)、亜硝酸ナトリウム (N) 及びプロリン ((A) モル比 0 ~ 1 等量) を混合し、pH 3.4, 37°C, 3 時間反応後各反応液の Ames テスト (TA100, S9 量 150  $\mu$ l) を行ったところ、プロリンの添加により著しい変異原性の低下が認められた。さらに、同様の反応液をラットに経口投与し、DNA 損傷により合成の上昇が認められるボリ ADP リボースの前駆体である NAD 量を測定したところ、肝臓の NAD 量の低下はプロリン添加により認められず無処置群と同一の値を示した。また、(A) 及びプロリンを飲料水に、(N) を飼料に混ぜ、伊東らの方法により処理した F 344 ラットに自由摂取させて肝臓における抗胎盤性グルタチオン S トランسفエラーゼ (GST-P) 抗体陽性細胞巢を画像解析した。部分肝切除後 (A) 及び (N) を摂取した群は非摂取群より抗 GST-P 陽性巢及び細胞数共に高値を示し、(A) 及び (N) にプロリンを摂取した群は両値共に著しい抑制傾向が認められた。以上よりプロリンは発癌性ニトロソアミン生成に起因する発癌に対し予防の可能性を持つことが示された。

## 緑茶熱湯抽出エキスの

in vitro 発癌プロモーション抑制作用について  
○中村好志、原田晴司、原 征彦\*、富田 勲  
静岡薬大、\*三井農林（株）

静岡県内の緑茶生産地域では癌訂正死亡率が有意に低いと言われる（小国ら、農芸化学会講演要旨集、p.153, 1985）。緑茶飲用の発癌抑制への関与を明らかにする一環として、緑茶熱湯抽出エキスの発癌プロモーション抑制効果を in vitro で検討した。

実験は late-stage プロモーションの特異な検出系である Balb C マウス表皮由来、JB6 C122, C141 株（足場依存性）を用いて TPA で誘導した足場非依存性の軟寒天コロニー形成（2週間）に対する抑制効果を検討した。被験物質は、緑茶のほか紅茶、柿茶の熱湯抽出エキス（茶葉 2.0 g/熱湯 400 ml, 5 分間）および緑茶成分の epigallocatechin gallate (EGCG) などについて細胞増殖を阻害しない濃度内で調べた。

茶熱湯抽出エキスは最高濃度 20-50  $\mu\text{g}/\text{ml}$  で 70-80% (C122) と 40-50% (C141) 程度の TPA 誘導寒天コロニー形成阻害を示した。同様な阻害は EGCG (10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) でも認められること、ビタミン C をほとんど含まない紅茶も緑茶に相当する抑制を示すことから茶カテキンが抑制物質の 1 つであることを示唆している。尚いざれの場合も、癌化細胞の形質表現には阻害を示さないので、上記の阻害は neoplastic transformation の過程を特異的に抑制しているものと考えられた。

## 水生植物の抗変異原作用

○佐藤孝彦、藤本貴子、小瀬洋喜、松田浩明、永瀬久光、鬼頭英明  
岐阜薬科大学 環境衛生学教室

先に演者らは長良川支流に生息する水草の一種ホソバヤナギモ (*Potamogeton oxyphyllus* Miq.) に抗変異原物質の存在する事を見いだし、第11回の本学会で報告した。今回はホソバヤナギモ以外の水生植物の抗変異原物質の存在及び存在を認めた植物の抗変異原作用の諸性質について報告する。

先ず岐阜県長良川水域より 13 種の水生又は水棲の植物を採集し、その抗変異原性を調べてみた。植物は採集後よく水洗いし、全草を細切し、ミキサーでホモゲナイズし、ガーゼろ過後、3500g, 20 分遠心後、その上清を減圧濃縮後、凍結乾燥した。

抗変異原性試験は *Salmonella typhimurium* TA 100 及び 98 を用いる Ames 試験に突然変異物質を加え、突然変異頻度を増加させた系に試料を加える事による、突然変異頻度の低下を測定した。その結果、ヤナギタデ (*Potamogeton hydrophile L.*)、エビモ (*Potamogeton crispus L.*) アシカキ (*Leersia japonica Makino*) の 3 種に強い抗変異原性が認められた。

次ぎに、この 3 種の抗変異原物質について検討し、以下の結果を得た。(1) いずれも耐熱物質である。(2) エビモとアシカキ抽出物は benzo[a]pyrene と 2-nitrofluorene の変異原性を低下させたが、AF-2 の変異原性を低下しなかった。一方ヤナギタデ抽出物は benzo[a]pyrene の変異原性は低下したが、2-nitrofluorene と AF-2 の変異原性は低下しなかった。(3) エビモの活性物質は分子量 30 万以上であったが、アシカキとヤナギタデは 30 万以上及び以下の両分画に活性があった。現在これらの物質が desmutagen であるか antimutagen であるか追求中である。

## 金属化合物の抗突然変異性

(i) As (III) と Se (IV)

○布柴達男、佐藤まゆみ、三枝 新、曾谷知弘、西岡 一（同志社大、生化研）

金属化合物の中には DNA 損傷性、変異原性、発ガン性を示すものがあることは既によく知られている。我々は 74 種の金属化合物からヒ素化合物を含む 21 種に DNA 損傷性が、そのうち 9 種が変異原性を示すことを報告した<sup>1)</sup>。一方、変異原性の評価や防御の視点から、その modulation の重要性が認識され、抗変異原性の研究が開始してきた。我々も、各種変異原に対するヒトだ液、血液やこれらの成分などの不活化作用について報告した<sup>2)3)</sup>。

これらの研究の延長として、UV や 4NQO による突然変異誘発に対する金属化合物の抗突然変異性のスクリーニングを行い、数種の抗突然変異性金属を見出した。今回はこれらの中から亜ヒ酸ナトリウム (NaAsO<sub>2</sub>) および亜セレン酸ナトリウム (Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>) について報告する。

NaAsO<sub>2</sub> 250  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (生存率に影響せず、変異原性も示さない濃度) をプレートに添加することにより、UV、4NQO、MMS、AF-2 の mutagenesis は著しく抑制された（抑制率 70-100%）。但し、MNNG、MNU はむしろ増加する傾向がみられた。

このメカニズムにおける umu-gene induction への効果を検討する為、UV 照射した TA1535/pSK1002 を NaAsO<sub>2</sub> 存在下で 150 分培養した後、 $\beta$ -galactosidase 活性を測定した。その結果、NaAsO<sub>2</sub> は、酵素反応には影響せずに umu-gene induction を抑制することが明らかとなった。また、大腸菌各種 DNA 修復変異株の UV Survival への効果、error-free repair への影響についても調べた。以上の結果より、NaAsO<sub>2</sub> の抗突然変異性のメカニズムは、umu-gene induction を抑制するとともに、error-free repair を増強することによると推定された。

同様の研究が Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> についても行われ、比較検討された。

- 1) Nishioka, Mutation Res., 31, 185-189 (1975).
- 2) Nishioka et al., Mutation Res., 85, 323-333 (1981).
- 3) Nunoshiba et al., Sci. Eng. Rev. Doshisha Univ., 27, 1-9 (1986).

## 哺乳動物細胞に対するビタミン類の変異原修飾作用

黒田行昭（国立遺伝学研究所）

チャイニーズ・ハムスター V 79 細胞では、強力な変異原物質の 1 つであるエチル・メタンサルフォネート (EMS) によって誘発される 6-チオグアニン (6TG) 抵抗性突然変異がビタミン C によって著しく抑制されることを昨年の大会で報告した。今回は、ビタミン C の誘導体であるデヒドロ・ビタミン C やイソ・ビタミン C、またはビタミン C 以外のビタミンとしてビタミン A やビタミン E が、EMS の突然変異誘発作用に対してどのような影響を与えるかについて述べた。

これらのビタミン類の細胞に対する致死作用は、3 時間処理の LD<sub>50</sub> で、ビタミン C が 132  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、デヒドロ・ビタミン C は 269  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、イソ・ビタミン C は 59  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、ビタミン A は 302  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、ビタミン E は 710  $\mu\text{g}/\text{ml}$  で、細胞致死作用はイソ・ビタミン C がもっとも強く、ビタミン E がもっとも弱かつた。これらのビタミン類を EMS と同時処理した時、ビタミン C およびイソ・ビタミン C は EMS の致死作用を抑制したが、デヒドロ・ビタミン C やビタミン A、ビタミン E は EMS の致死作用を強める作用を示した。

6TG 抵抗性突然変異の誘発は、いずれのビタミン類も単独処理ではそれ自身突然変異誘発作用はなかった。これらのビタミン類を EMS と同時処理すると、ビタミン C は EMS による突然変異誘発率を 1/3 ~ 1/4 に低下させるが、デヒドロ・ビタミン C およびイソ・ビタミン C も、同じく EMS による突然変異誘発率を 1/2 ~ 1/3 に減少させた。ビタミン A にはこのような EMS に対する抗変異原性は認められず、突然変異誘発率はほとんど影響を受けなかった。ビタミン E は EMS による突然変異誘発率を高める作用があった。

## 55 ペルオキシダーゼによるヘテロサイク リックアミンの不活性化機構。

○北川義徳<sup>1</sup>、小松原佐和子<sup>1</sup>、諫訪芳秀<sup>1</sup>、吉栖 肇<sup>1</sup>、  
長尾美奈子<sup>2</sup>、杉村 隆<sup>3</sup>（<sup>1</sup> サントリー（株）  
応用微生物研究所、<sup>2</sup> 国立がんセンター研究所、

ペルオキシダーゼ（POD）は、動植物や微生物界に広く分布する酵素である。PODをヘテロサイクリックアミン（HA）の変異原性テスト系に加えると、HAの変異原性を不活性化するという報告がある。PODはS9mixの存在下で、蛋白性加熱食品やタバコタールの*S. typhimurium* TA98株に対する変異原性を完全に消失させた。この失活には、PODとS9mixの同時存在が必須である。

Trp-P-2 をモデルとして、西洋わさび由来の POD による HA の T A 98 株に対する変異原性不活性化機構を検討し、以下の結果を得た。

(1) H A に対し、P O D は  $H_2O_2$  が存在しないと作用せず、不活性化反応は進まない。(2) H A 由来の *N*-ヒドロキシアミノ体 (*N*-OH-Trp-P-2) は、P O D による不活性化を受ける。これは *N*-ヒドロキシアミノ体の產生する  $H_2O_2$  が電子受容体となっているためと考えられる。

PODの他に、オキシダーゼ（キサンチンオキシダーゼやグルコースオキシダーゼ）も Trp-P-2 のTA98株 (+S9mix) に対する変異原性を不活性化するが、POD同様、N-OH-Trp-P-2 を基質とする反応であることを明らかにした。

従つて、これらの酵素を食品、嗜好品中の変異原除去の目的で用いる場合は上記作用機構を考慮すべきと考へる。

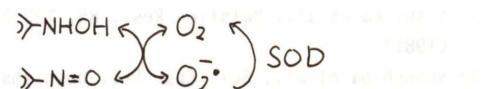
○平本一幸、難波哲人、根岸和雄、早津彦哉  
(岡山大・薬)

我々は食品加熱変異原の代謝活性化体であり直接変異原性を示すN-OH-Trp-P-2やN-OH-Glu-P-1が酸化的に自己分解し、その過程でスーパーオキサイドラジカル( $O_2^{\cdot}$ )などの活性酸素種を生成し、DNAに傷害を与えることを報告してきた。

今回我々は、この分解の機構に検討を加えるために、 $O_2^-$  のスカベンジャーであるスーパーオキサイドジスムターゼ (SOD) の、分解に対する影響を調べた。中性緩衝液中で  $N$ -OH-T<sub>2</sub>P-R2 や  $N$ -OH-Glu-R1、4-Hydroxyaminoguanidine N-oxide、Phenylhydroxylamine 等の芳香族ヒドロキシルアミンに SOD を加えたところ、分解が著しく促進されることがわかった。またこのときの分解産物は対応するニトロソ体であることを、吸収スペクトルおよび HPLC によって同定した。

更に我々は、ヒドロキシルアミノ体がニトロソ体へと酸化される反応は可逆的であり、ヒドロキシルアミノ体とニトロソ体は平衡状態にあると仮定した。そこで、芳香族ニトロソ化合物の水溶液に、キサンチンとキサンチンオキシダーゼにより  $O_2^-$  を供給すると、ヒドロキシルアミノ体が生成することが HPLC 分析により認められた。従ってニトロソ体は  $O_2^-$  により還元されてヒドロキシルアミノ体になることがわかった。

以上のことより、ヒドロキシルアミノ体とニトロソ体は平衡状態にあり、 $O_2^-$ によってこの平衡を移動させることができることがわかった。



**P1**

多環芳香族炭化水素の光ニトロ化、光酸化と変異原性及びDNA切断  
古川秀之<sup>1</sup>、○河井一明<sup>1</sup>、常盤寛<sup>2</sup> (名城大学  
薬学部生物科学研究室、<sup>2</sup>福岡県衛生公害センター)

**【目的】**多環芳香族炭化水素(PAH)のNO<sub>2</sub>による気相光ニトロ化、光酸化及びそれに伴う変異原性の変化、さしに酸化物によるDNA切断について検討したい。

**【方法】**気相ニトロ化については試料1mgを入れた無色透明デシケーターにNO<sub>2</sub>を導入し、写真用電球の光を照射して得た反応生成物をGC及びGC-MSにより分析した。変異原性試験は常法によった。DNA切断は、 $\phi$ X174ファージDNAのRFIからRFIIへの変化をアガロースゲル電気泳動で測定した。  
**結果、考察** PAHとNO<sub>2</sub>との光反応において、クリセン、ピレン、フルオレン、アントラセン、ペリレンはモノニトロ体を生成した。またクリセン、ピレン、フルオレン、アントラセン、ペンゾ[*a*]ピレンはジニトロ体を生成した。さしにアントラセン、ペンゾ[*a*]アントラセン、ジペンゾ[*a, h*]アントラセン、ナフタセンはキノン体を生成した。さしにピレン、ペリレンはクロロホルムに対し不活性の化合物を生成した。以上の様に、アレン類のNO<sub>2</sub>存在下における光反応では、ニトロ体を与えるばかりでなくキノン体が生成する場合もある。

ペンゾ[*a*]アントラセンのTA98、S9(+)-系における復帰突然変異コロニー数は73(Rev./20μg)であるが、キノン体では180(Rev./20μg)である。PAHはニトロ化により変異原性が増大すると言われているが、キノン体の生成によつても変異原性が増大することがある。また、ナフタセン及び7,12-ジメチルペンゾ[*a*]アントラセンの酸化物はNADH存在下 $\phi$ X174 ファージDNAを切断した。

**P2**

水中B(a)Pの塩素処理生成物について  
○神野透人、高橋淳子<sup>\*</sup>、岩原繁雄<sup>\*</sup>、松井啓子、  
安藤正典、武田明治 (国立衛試、\*食品薬品安全  
センター・秦野研)

**【目的】**多環芳香族炭化水素(PAH)のヒトへの曝露は、大気あるいは食品を介した面が問題とされてきた。しかしながら、PAHはこれら汚染経路ばかりでなく、水を介した曝露の可能性も示唆されている。一方、水道水は殺菌剤として塩素による消毒が行われ、これが水中に存在する有機物質と反応して多くの不揮発性有機ハロゲン化合物を生成することが知られている。そこで著者らは、水道水中にPAHが存在した場合の挙動を検討するため、塩素処理に伴うB(a)Pならびに反応生成物の消長、変異原性について検討した。

**【実験方法】** B(a)P溶液に塩素水を加えて一定時間反応させた後、反応生成物をヘキサン抽出、留去後アセトニトリルに溶かして高速液体クロマグラフを用いて挙動を検討した。反応液の一部はAmes試験(TA98, TA100)を行った。

**【結果】** B(a)Pに塩素水を加えて一定時間反応させた液について高速液体クロマトグラフを行ったところ、B(a)Pの他に保持時間8.0分、8.5分18.0分および18.5分に新しいピークが生成することを認めた。そこで、これらピークの生成条件を検討したところB(a)Pは塩素濃度の増加に伴つて減少することがみられるのに対し、4つのピークは塩素濃度の増加に伴つて生成量が増加することを認めた。また、pH変化に伴う挙動はB(a)PではpHの低下に伴つて消失することが認められたのに対して、反応生成物は酸性領域に移行するに従つて生成量が増加することを認めた。

つぎに、B(a)Pと塩素との反応生成物の変異原性について検討すると、TA98, TA100に変異原活性が存在することがみられた。

**P3**

3,4-Dinitrobiphenyl誘導体のSalmonella typhimurium株に対する変異原性と反応性について  
○平山晃久 日下部治夫 渡辺徹志  
小野真由美 藤岡靖弘 小笠茂  
福井昭三 (京都薬大)

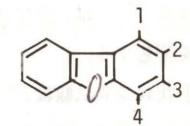
すでに著者らはニトロビフェニル類の構造とそのS. typhimuriumに対する変異原性について検討してきたが、特に興味深い事は3,4-dinitrobiphenyl誘導体がTA98、TA98/1,8-DNP<sub>6</sub>のみならず"古典的" nitroreductase欠損株であるTA98NRにも高い活性を示した事である。

そこで今回はこれら化合物の反応性の面から検討を加えた。4種の誘導体を10<sup>-5</sup>~10<sup>-1</sup>N NaOH溶液と37°1hr反応させたところ、10<sup>-3</sup>~10<sup>-1</sup>NaOH溶液濃度でNO<sub>2</sub><sup>-</sup>を遊離し、その量はo-ジニトロ基に対応していた。また基本骨格であるo-dinitrobenzene(o-DNBz)およびdirect mutagenである4NQOにおいてもNO<sub>2</sub><sup>-</sup>の遊離が認められた。次にo-DNBzについて水溶液、MeOHおよびEtOH中でNaOH処理を行ったところ、o-nitrophenol、o-nitroanisolおよびo-nitrophenetolが生成し、これはNaOHによりニトロ基の脱離、次いで溶媒中のOH、OCH<sub>3</sub>およびOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>の付加が考えられ、途中にニトロ基脱離によるカルボカチオンの存在が示唆された。そこで非水溶媒であるDMSO-DMF(9:1)中o-DNBzをNaOHと反応させ、求核試薬として核酸塩基であるguanineおよびadenineを添加し室温下30hr反応させたところguanineからは無色結晶、MS:m/z 272(M<sup>+</sup>)、High MSからC<sub>11</sub>H<sub>8</sub>N<sub>6</sub>O<sub>3</sub>、<sup>1</sup>H-NMRにおいて2位NH<sub>2</sub>ならびに8位CHのシグナルが認められる事からN-1、N-9あるいは6-0にo-nitrophenyl基の付加した化合物が、またadenineとの反応物からは黄色結晶、MS:m/z 256(M<sup>+</sup>)、High MSからC<sub>11</sub>H<sub>8</sub>N<sub>6</sub>O<sub>2</sub>、<sup>1</sup>H-NMRより6位NH<sub>2</sub>のシグナルが認められる事からo-nitrophenylのN-1、N-3あるいはN-9付加体が得られた。さらに3,4-dinitrobiphenyl誘導体についても同様の反応を行い、生成物の構造について検討した。

**P4**

Mononitrodibenzofuranの変異原性について: ○滝本めぐみ<sup>1)</sup>、原ゆかり<sup>2)</sup>、名取信策<sup>2)</sup>、松島泰次郎<sup>1)</sup> (東大医科研<sup>1)</sup>、明治薬大<sup>2)</sup>)

6種類のnitrodibenzofuranの変異原性についてS. typhimurium TA98、nitroreductaseが欠損したTA98NRとacetyltransferaseが欠損したTA98/1,8-DNP<sub>6</sub>を用いて検討した。TA98に対して、-S9 mixでの変異原活性はニトロ基の位置が3位>2位>1位の順に強かった。また、いずれの物質もTA98NRを用いると10%程度以下に変異原活性が下がり、TA98/1,8-DNP<sub>6</sub>を用いると30%から数%まで変異原活性が下がった。このことより、nitrodibenzofuran誘導体の代謝活性化には少なくともnitroreductaseとacyltransferaseの2段階の活性化機構が考えられる。



| Revertants/nmole |                           |      |        |                               |
|------------------|---------------------------|------|--------|-------------------------------|
| -NO <sub>2</sub> | -AcNH<br>-NH <sub>2</sub> | TA98 | TA98NR | TA98/<br>1,8-DNP <sub>6</sub> |
| 1-               | -                         | 26   | 2.2    | 3.3                           |
| 2-               | -                         | 47   | 3.4    | 16                            |
| 3-               | -                         | 101  | 10     | 17                            |
| 2-               | 3NH <sub>2</sub>          | 2052 | 159    | 273                           |
| 2-               | 3AcNH                     | 39   | 4.6    | 12                            |
| 3-               | 4AcNH                     | 567  | 40     | 15                            |

## P5

天然甘味料ステビオサイドとそのアグリコンであるステビオールの突然変異誘発作用に関する研究

○松井道子、松井恵子、川崎洋子\*、沢田 稔、能美健彦、祖父尼俊雄、義平邦利\*、石館 基  
(国立衛生試験所 変異原性 食品添加物\*)

【目的】ステビオサイドは南米巴拉グアイに野生するキク科の植物 *stevia rebaudiana* Bertoniから抽出され、代表的な天然甘味料として広く使用されている。純度の高いステビオサイドについては、変異原試験で陽性結果は報告されていないが、最近、Pezzutoら<sup>1)</sup>はステビオールが変異原性を示すことを報告している。今回、我々はステビオサイド及びステビオールについてサルモネラ菌を用いる復帰変異試験及びforward mutation assayを行い、さらにステビオールについては、マウスを用いる小核試験を行ったので結果を報告する。

【方法】復帰変異試験は、*S. typhimurium* TA100 TA98 TA97 TA102の4菌株を用い、preincubation法で行った。Forward mutation assayは、*S. typhimurium* TM677、TM35及びKH75を用い、Skopekらの方法で行った。小核試験は、ms系マウス（高感受性）を用い、腹腔内1回投与（125 1000mg/kg）で行った。

【結果】復帰変異試験では、ステビオサイド及びステビオールは5mg/plateまで濃度を上げてもいずれの菌株に対しても殺菌作用、変異誘発作用を示さなかった。しかし forward mutation assayではステビオールのみが+S9 Mix条件下で変異原性を示し、変異原活性の強さはTM677>TM35>KH75の順であった。一方、ステビオールはマウス骨髄を用いる小核試験において陰性であった。

1)Pezzuto J.M. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA. vol.82 pp.2478-2482(1985)

## P6

2,4-diaminotoluene (DAT)の過酸化水素処理生成物及びphenazine誘導体の*S. typhimurium* TA 98に対する変異原性について

○渡辺徹志、平山晃久、小野真由美、横山 敏、福井昭三（京都薬大）

我々は市販ポリウレタンフォームのトルエン抽出物が変異原性を有するが、その変異原性がトルエン抽出物中の2,4-及び2,6-DATの量と変異原性からでは説明できること、また2,4-DATの過酸化水素酸化により変異原性が著しく上昇することなどを報告してきた。今回は2,4-DAT過酸化水素反応物中の変異原物質の検索の目的でアンモニアアルカリ性室温下で反応を行った。反応2日後、析出した沈澱を分離し、反応液は酢酸エチルで抽出した。活性の高かった沈澱をSiO<sub>2</sub>カラムクロマトグラフィーを行い、Fr.1-5に分画した。各Fr.についてS 9 mix存在及び非存在下*S. typhimurium* TA98に対する変異原性を試験した。Fr.2から主生成物の赤色針状結晶（A）を単離し、<sup>1</sup>H-及び<sup>13</sup>C-NMR, GC-MSなどの結果、及びアセチル化等の反応によりその構造を2,7-diamino3,8-dimethylphenazineと結論した。化合物（A）の変異原活性に対する最適S 9量は20 μl/plateであり、1 μg/plate (1532 rev.)までdose-responsecurveは直線性を示した。またFr.2以外に副生成物であるが、さらに強い変異原性を示す画分と-S 9 mixで強い変異原性を示す画分があり、これらの単離及び構造決定を試みた。phenazine誘導体の変異原性はほとんど知られていないので、今後数種のphenazine誘導体を合成し、その構造と変異原活性との相関性について検討する予定である。

## P7

微生物による金属の突然変異性検出法  
IV. 金属塩と9-アミノアクリジンおよびハルマンの組合せ

○尾川博昭、坂田一矩、二井谷好行、加藤安彦（九工大・工・環境）

我々は、微生物を使用して金属化合物の突然変異性を検出する目的で、キレート化作用を有する有機化合物を添加すること、および金属化合物用の最小培地を考案し、新規試験手法を開発した。この試験法で、従来検出できなかった癌原性のコバルトおよびニッケル化合物の突然変異性を検出することに成功した。またコバルトとキレート化剤間の相互作用強度と変異原性は、逆の相関を示すことが判明した。本試験法の癌原性金属化合物への適用拡大の範囲を定めること、およびその検出機構について検討を行なったので報告する。なお突然変異試験には *Salmonella typhimurium* TAシリーズ株を使用した。

21種の金属塩と9-アミノアクリジン(9AA)の組合せでベリリウム、マンガン、鉄、亜鉛、ジルコニウムおよびスズの突然変異性を検出した。癌原性のクロム、カドミウムおよび鉛は細胞毒性を示し、または水和物や水酸化物を形成することにより、それらの突然変異性が認められなかった。これらの結果は、金属塩とアクリジン系の複素芳香族アミンの組合せによる本試験法が、各種の金属化合物の突然変異性を検出できることを示している。

次に、塩化コバルト(CoCl<sub>2</sub>)と9AAおよびハルマン(HM)の共存下で、コバルトの突然変異性の検出機構を調べた。CoCl<sub>2</sub>と9AAの組合せによる突然変異性は、等モルの濃度において最大の誘発を示した。CoCl<sub>2</sub>とHMの組合せでは、等モル、pH8.0の条件下でCoCl<sub>2</sub>の突然変異性を認めた。一般に遷移金属とアミン化合物は弱アルカリ性条件下で錯体形成を行なうことが知られている。以上の結果から、9AAやHMは「金属キャリアー」として機能していることが示唆された。コバルト等の陽イオン性金属種は9AAと親脂性の錯体を形成し、細胞に侵入して標的物質(DNA等)に作用して突然変異を誘起しているものと考えられる。

## P8

微生物による金属の突然変異性検出法  
V. コバルトとピリジン化合物の相互作用強度と変異性強度

尾川博昭、二井谷好行、劉松原、坂田一矩、○加藤安彦（九工大・工・環境）

先に報告したように、塩化コバルト(CoCl<sub>2</sub>)の突然変異性は複素芳香族(キノリン系、アクリジン系)を共存させて検出できること。さらに、可視およびNMRスペクトルでCoCl<sub>2</sub>とキレート化剤の相互作用を調べた結果、それらの作用強度と変異性強度とは逆の相関を示すことなども判明した。突然変異の最適の検出感度をもたせるためには金属イオンとキレート化剤の相互作用力の数量化が必要である。今回、CoCl<sub>2</sub>とキレート化剤としてピリジン誘導体を用い、それらのpKa(電解質解離指数)をCoイオンとの作用強度の指標として、突然変異誘起性を調べたので報告する。試験には *Salmonella typhimurium* TA1537およびTA2637株を使用した。またピリジン誘導体はpKaが1.86～9.71の化合物を用いた。

CoCl<sub>2</sub>とピリジン誘導体の組合せでpKaが3.49～6.03の化合物で、CoCl<sub>2</sub>の突然変異性が認められた。pKaの大きい、すなわち結合力が強い4-ジメチルアミノピリジンや4-アミノピリジン、またpKaが小さく、結合力のない4-シアノピリジンなどでは突然変異性が検出されなかった。またイソニコチニン酸は中程度(4.90)のpKaを示すが、CoCl<sub>2</sub>の変異性を示さなかった。これはイソニコチニン酸のカルボキシル基がCoイオンと反応して錯体を形成できず、突然変異性を示さなかったものと考えられる。なお使用したピリジンおよびその誘導体は、単独では変異性が認められなかった。以上の結果から、コバルトの最適の突然変異性検出感度をもたせるためには、Coイオンとキレート化剤間の相互作用強度の閾値(pKa3.49～6.03)内で、キレート化剤を選択すべきであると結論される。

## P9

### 5-Fluorouracilのin vivo変異原性

○中村 稔、藤川 和男、菊池 康基  
武田薬品・中研

代謝拮抗剤5-fluorouracil(5-FU)はマウスのin vivoテスト系で明瞭な染色体損傷性を示す。染色体に対して毒性を示す物質の多くは遺伝子に対しても毒性を示すので、5-FUは染色体異常のみならず遺伝子突然変異も誘発する効果をもつかもしれない。5-FUは制がん剤として使用されていることを考慮すれば、遺伝子突然変異のテストはマウスの特定座法を用いて行うのが望ましい。しかし、これは現実的ではない。マウスで遺伝子突然変異を誘発する物質はショウジョウバエでも遺伝子突然変異を誘発する。5-FUのin vivo変異原性をショウジョウバエで調べてみた。

Unstable white-zeste(UZ)系とmwh/TM系を用いて体細胞遺伝子突然変異の検出を試みた(前者は $w^{+}(TE)$ の $w^{+}$ への復帰変異を眼色スポット、後者はmwh座の前進突然変異を翅毛スポットとして検出する系)。5-FU処理は1令幼虫に対して行った。処理濃度は、体細胞染色体組換えを自然レベルの10倍以上の頻度で誘発し、眼原基の発生に異常をもたらすように設定したが、5-FUは、復帰、前進のいずれのタイプの遺伝子突然変異の誘発にも有意な効果を示さなかった。一方、陽性対照として用いたEMSはいずれの突然変異指標に関してても顕著な効果を示した。

5-FUは動物生体内で,clastogenかつrecombinogenとしての作用をもつことはまちがいない。しかし、その代謝産物FdUMPがイーストでそうであるようにmutagenとはみなせない。5-FUによるチミジル酸飢餓と染色体組換え生成の関連にも言及する。

## P10

### 5-FU, CarmofurおよびTegafurの

#### 染色体損傷性

○菊池 康基<sup>1</sup>、F. Fort<sup>2</sup>、中村 稔<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>武田薬品・中研、<sup>2</sup>Abbott Lab., USA

5-FUのような代謝拮抗剤の染色体損傷性をマウスin vivo系で定量的に検討するには、胎児肝臓の赤芽球細胞の方が単回投与に反応しやすいという点でマウス骨髄細胞より適した処理対象である。本研究では、5-FU、およびその誘導体のCarmofurとTegafurの胎児肝赤芽球に対する小核誘発能の比較を試みた。

8~10週齢の(C3H×SWV)F<sub>1</sub>雌マウスに同系雄マウスを交配し、妊娠13日に5-FU, CarmofurあるいはTegafurを腹腔内投与した。投与24時間後に検体用量と胎児肝赤芽球における小核の出現頻度の関係を調べた。この実験で最大効果をもたらした用量で、各検体の小核誘発作用の経時的变化を投与後18~48時間にわたって調べた。次に、同じ用量で処理後24時間の胎児肝における染色体異常を観察した。胎児肝赤芽球の小核標本作成と観察は、Yamamoto & Kikuchi(1984)の方法によった。染色体標本は、常法によりflame dry後にGiems染色を施して作成した。各検体の小核赤芽球出現頻度の用量効果関係を比べると、小核を5%誘発するのに必要な用量は、5-FU, Carmofur, Tegafurでそれぞれ0.05, 0.06, 0.4mmole/kgであった。小核出現頻度の経時変化をみると、5-FU(0.2mmole/kg)とCarmofur(0.1mmole/kg)では24時間後で最高だったが、Tegafur(1.6mmole/kg)では30時間後に最高値を示した。小核形成の原因となる染色体変化はいずれの検体においても、主に染色分体のギャップと切断であり、交換型異常の出現は稀であった。

以上の結果から、Tegafurの胎児肝赤芽球に対する小核誘発能は5-FUやCarmofurとは異なることが示された。このことは、これら3種の薬物の生体内における動態を反映するものかも知れない。

## P11

### ラット肝細胞DNA修復試験による

#### Hydrazine誘導体のgenotoxicity

○杉江茂幸<sup>1</sup>、吉見直己<sup>1</sup>、森 秀樹<sup>1</sup>、清水 英佑<sup>2</sup>

<sup>1</sup>岐阜大医学部一病理、<sup>2</sup>東京慈恵医大公衆衛生

Hydrazine誘導体は工業化学物質や農薬、医薬品として広く環境中に存在するため、その発癌性や変異原性等に関する評価は重要である。

今回、ラット肝細胞初代培養/DNA修復試験に於て多数のHydrazine誘導体のgenotoxicityを検索した。

#### 〈材料〉

Hydrazine誘導体として、31化合物1-Hydrazinophthalazine HCl、2-Hydroxyethyl hydrazine、4-Methylphenyl hydrazine HCl、p,p'-Oxybisbenzene disulfonylhydrazine、 $\beta$ -Phenylethyl hydrazine sulfate、Phenyl hydrazine HCl、Benzyl hydrazine 2HCl、1,1-Dimethyl hydrazine、1,2-Dimethyl hydrazine 2HCl、Ethyl hydrazine oxalate、2-Methyl-4-chlorophenoxy acetic acid hydrazide HCl、n-Methyl-n-formyl hydrazine、Methylhydrazine sulfate、 $\beta$ -Phenylisopropyl hydrazine、N-Acetyl-4(hydroxy methyl)phenyl hydrazine等を使用した。

#### 〈結果及び考察〉

これらのうち、1-Hydrazinophthalazine HCl、4-Methylphenylhydrazine HCl、p,p'-Oxybisbenzene disulfonylhydrazine、Phenylhydrazine HCl、N-Acetyl-4(hydroxy methyl)phenylhydrazineが陽性反応を示した。ラット肝細胞におけるgenotoxicityはSalmonella菌による変異原性とともに、動物による造腫瘍性とは高い相関性を示さなかった。しかし、この様な成績はこれら化合物の発癌性のmodeの解析上有用と考えられる。

## P12

### ヒト肝細胞DNA修復試験によるnitroarene類のgenotoxicity

○吉見直己<sup>1</sup>、杉江茂幸<sup>1</sup>、森 秀樹<sup>1</sup>、木内武美<sup>2</sup>、大西克成<sup>2</sup>

<sup>1</sup>岐阜大医学部一病理、<sup>2</sup>徳島大医学部細菌

近年、環境性変異原物質として、nitroarene類とくにnitropyrene類は重要視されている。これらのヒトへの直接的なリスクを推定すべく、数種のnitroarene類を用い、ヒト肝細胞初代培養によるDNA修復試験を試みた。

#### 〈材料及び方法〉

nitroarene類として、1-nitropyrene、1,3-dinitropyrene、1,6-dinitropyrene、1,8-dinitropyrene、2,7-dinitrofluorene、3-nitrofluoranthene、1-nitro-3-hydroxypyreneを用いた。ヒト肝細胞は、転移性肝癌または非肝硬変性原発性肝癌の手術摘出肝のうち、肉眼的に非癌部正常と思われる組織片(約2cm角)からMiyazakiらの方法に準じ、組織片を細切後コラゲナーゼ処理により単離細胞化させ(2~5×10<sup>4</sup>個/ml)、カバースリップ上にて初代培養した。DNA修復試験は、肝細胞核の不定期DNA合成を指標に上記物質の1×10<sup>-2</sup>~10<sup>-5</sup>濃度に対して行った。

#### 〈結果及び考察〉

検索した7種類のうち、1-nitropyrene、1,3-dinitropyrene、1,6-dinitropyrene、1,8-dinitropyreneは修復試験陽性であり、とくに3つのdinitropyrenesは強いgenotoxicityを示した。2,7-dinitrofluorene、3-nitrofluoranthene、及び1-nitro-3-hydroxypyreneは明確な陽性反応を示さなかった。nitropyrene類とくにdinitropyreneはヒト肝細胞DNA修復試験で強い陽性を示し、変異原性陽性と合わせて、ヒトにおける発癌性が示唆される。

## P13

ニトロビレン、ニトロフルオレン類の  
in vitro染色体異常誘発性

○松岡 厚子<sup>1</sup>、祖父尼俊雄<sup>1</sup>、佐藤 茂秋<sup>3</sup>、宮田 直樹<sup>2</sup>、  
石館 基<sup>1</sup>  
(国立衛生試験所・変異原性部<sup>1</sup>、合成化学研究部<sup>2</sup>、国立  
がんセンター研究所<sup>3</sup>)

ディーゼル排ガス中に含まれるニトロビレン類およびニトロフルオレン類など8種の化合物について、チャイニーズ・ハムスター細胞株(CHL)を用いる染色体異常試験を行った。4種のニトロビレン類、1-nitropyrene (1-NP), 1,3-, 1,6-, 1,8-dinitropyrene(DNP)のうち、DNP類はAmes試験と同様、S 9非存在下で極めて低濃度 (0.025  $\mu\text{g}/\text{ml}$  より) で高頻度の染色体異常を誘発した。その強さは、1,8->1,6->1,3-DNP の順であった。しかし、S 9存在下では、明らかな染色体異常の誘発がみられなくなった。一方、1-NPではAmes試験と異なり、S 9非存在下では有意な染色体異常の誘発はみられなかったが、高濃度(10%以上)のS 9存在下では、明らかな染色体異常の出現がみられた。

一方、4種のニトロフルオレン (1-, 2-, 3-, 4-nitrofluorene) は6時間処理で、全て、低濃度ながら有意に染色体異常を誘発した。S 9を添加すると、より低濃度であり高頻度の染色体異常を誘発し、さらに強いclastogenに代謝されることが示唆された。

今回の結果から、1-NPとDNP類ではCHLに対する染色体異常誘発性に違いがあることが判明した。現在、1-NPの代謝活性化法による染色体異常誘発性についてさらに検討中である。

## P14

Tyramine及びMTCAのラット骨髄細胞における小核、および、染色体異常テストについて：

藤江喜美子<sup>1</sup>、杉山武敏<sup>2</sup> (大阪女子大学基礎  
理学科<sup>1</sup>、神戸大学医学部<sup>2</sup>)

我々は、若林らによる、しょう油から分離同定されたtyramine及びMTCA[1-methyl-1,2,3,4- $\beta$ -carbolin-3-carboxylic acid]のラット骨髄細胞における小核、および染色体異常テストを行なったので報告する。小核テストは、ICR系マウスにtyramine、およびMTCAを1回腹腔内投与し、24時間後に屠殺、スメアを作成した。1例につき、赤血球1000個当たりの小核赤血球の出現頻度を求めた。その結果 tyramineについては1mM/kgで、MTCAについては $10^{-1}$ mM/kgで対照群との間に有意な差を示す、0.90%, 1.82%の出現頻度を得た。染色体異常テストについては、我々はすでに多くの化学物質についてdataを得ているが、LEラットに腹腔内投与後6時間で屠殺し、1例につき175個の細胞を観察し、切断・ギャップをもつ細胞の頻度を算定した。その結果、tyramineについては $10^{-1}$ mM/kgで対照群との間で有意の差を得た。tyramine, MTCAとともに6時間で最大の頻度を示す、24時間後に、その影響は見られなかった。しょう油を投与した結果も合わせて報告する。

1) HUの720mg/kgは催奇形性量であり、妊娠14, 15日目の胎仔で小核が誘発された。しかしその母獣に小核誘発はなかった。2) 360mg/kgのHU投与群では、妊娠20日目の胎仔に小核及び奇形は出現しなかったが、妊娠14, 15日目の胎仔で小核が誘発された。その母獣において小核誘発は認めなかったが、妊娠14日目の母獣では360mg/kgより、また妊娠15日目の母獣では180mg/kgより骨髄抑制が認められた。4) CPは10mg/kgで催奇形性を示し、妊娠14, 15日目の胎仔及び妊娠14日目の母獣で小核が誘発された。

以上の結果から、1) HUは催奇形性と小核誘発作用があり、その催奇形性は小核誘発として現れる染色体異常に起因すると考えられる。2) ラット胎仔による小核試験は母獣に比べ鋭敏な検出系として有用であると考えられる。

3) ラット胎仔の小核誘発は催奇形性の指標になると考えられる。

## P15

Hydroxyureaのラット胎仔における小核誘発  
○青儀 巧、深澤 洋史、田尾 勝正  
大塚製薬株式会社徳島研究所

化学物質による染色体異常を検出するin vivo試験として小核試験が用いられているが、ラット胎仔における小核試験の報告は少ない。一方、催奇形物質として知られているHydroxyurea(HU)は、突然変異は起こさないが、染色体異常や小核を誘発することが報告されている。そこで、HUの催奇形性が小核誘発として現れる染色体異常に起因するのではないかと考え、HUの催奇形性と小核誘発を同時に検討した。

HUを妊娠13日のラット(Sprague Dawley)に腹腔内投与し、妊娠14, 15, 20日目に帝王切開して胎仔肝臓由来赤血球の小核を観察した。同時に妊娠14, 15日目の母獣について大腿骨由来赤血球の小核を観察した。また妊娠20日目の胎仔について外形異常・骨格検査を行った。陽性対照物質として変異原性及び催奇形性が強いcyclophosphamide(CP)を用いた。

1) HUの720mg/kgは催奇形性量であり、妊娠14, 15日の胎仔で小核が誘発された。しかしその母獣に小核誘発はなかった。2) 360mg/kgのHU投与群では、妊娠20日目の胎仔に小核及び奇形は出現しなかったが、妊娠14, 15日目の胎仔で小核が誘発された。その母獣において小核誘発は認めなかったが、妊娠14日目の母獣では360mg/kgより、また妊娠15日目の母獣では180mg/kgより骨髄抑制が認められた。4) CPは10mg/kgで催奇形性を示し、妊娠14, 15日目の胎仔及び妊娠14日目の母獣で小核が誘発された。

以上の結果から、1) HUは催奇形性と小核誘発作用があり、その催奇形性は小核誘発として現れる染色体異常に起因すると考えられる。2) ラット胎仔による小核試験は母獣に比べ鋭敏な検出系として有用であると考えられる。

3) ラット胎仔の小核誘発は催奇形性の指標になると考えられる。

## P16

微生物および培養細胞において変異原性が認められている農薬7種に関するマウススポットテスト  
○今西久子、佐々木有、渡辺三恵、森谷正明、白須泰彦  
(残留農薬研)、土川清(国立遺伝研)

目的および方法： EDB (1,2-ジブロモエタン)、EDC (1,2-ジクロロエタン)、D-D (1,3-ジクロロプロパンと1,2-ジクロロプロパンの混合物)、DDVP、NIP、キャプタン、キャプタホルは微生物および培養細胞において変異原性が報告されている。今回、これら7種の農薬に関するマウススポットテストを行った。テスター雄としては、国立遺伝学研究所・土川清によるPW系マウスを当研究所で兄妹交配により繁殖させたものを用いた。一方、雌にはC57BL/6-SLCを用いた。

結果： 1,3-ジクロロプロパン、キャプタン、キャプタホル投与群においては劣性変色斑を有する仔の出現率は無処理群および溶媒対照群よりも有意に高く、これら3種の農薬は胎仔の毛色に関する遺伝子に対し突然変異を誘発すると考えられた。

## P17

高変異原物質ジニトロフルオランテンのディーゼル排ガス及びLPG燃焼物からの検出 ○中川礼子, 世良暢之, 堀川和美, 常盤寛(福岡県衛生公害センター)

3-ニトロフルオランテン(3-NF)を硝酸及び発煙硝酸

でニトロ化すると, 3,4-,3,7-,3,9-ジニトロフルオランテン(DNF)が合成単離された。このDNFは分子量(292), HPLC およびTLCでの挙動, マススペクトルの成績はジニトロビレン(DNP)に酷似している事がわかった。更にDNFのサルモネラ菌に対する変異原性は, DNPと同じくフレームシフト型の高変異原性を示し, TA98, TA1538株に対して, 3,7及び3,9-DNFの変異原性は1,6-DNPのそれに相当した。以上の事からDNFが分子構造上類似している為にDNPと同様な毒性を有すると考えられ, DNP及びDNFの環境中の濃度が注目された。ディーゼル排ガス及びLPG燃焼物の有機物質をベンゼン-メタノールで超音波抽出し, その中性画分をシリカゲルカラムクロマトによって, non polar, moderately polar, polarに分画した。中性画分の変異原性の75%がmoderately polar画分に移行した。この活性画分をゼルバックスCNカラムを装着したHPLC及びフレームサーミオニック検出器付ガスクロマトグラフィー(column: Shimazu fused silica capillary column)によって分析した。その結果, 両試料ともニトロビレン類に加えてニトロフルオランテン類即ち3-NF, 3,9-(3,7-)DNFが検出された。特に, ディーゼル排ガス中には3,7-DNFが0.03ppm, 3,9-DNFが0.01ppm, 1,6-DNPが0.01ppmと微量ながら検出された。

## P18

ディーゼルエンジン排気物質抽出物による末梢リンパ球姉妹染色分体交換(Sister Chromatid Exchange)誘発について ○中川礼子, 世良暢之, 堀川和美, 常盤寛(福岡県衛生公害センター)

森本兼義 ○三浦邦彦 小泉明  
(東京大学医学部公衆衛生学教室)

本研究に於いては、現在その毒性の程度が議論されているディーゼルエンジン排気物質抽出物(以下ディーゼルタルールと略)5種類及び煙草煙抽出物(タバコタルールと略)2種類について、primaryの末梢リンパ球並びにEB-virusにより樹立されたリンパ芽球様細胞株に於ける姉妹染色分体交換(Sister Chromatid Exchange; SCE)誘発性を検討した。

I 健康成人5名よりヘパリン採血した末梢血(0.3ml)をRPMI1640培養液(牛胎児血清15%、抗生物質1%、5-bromodeoxyuridine, BUdR 40μMを含む)4.7mlに添加、37℃、5%CO<sub>2</sub>の環境下でphytohemagglutinin刺激により72時間のリンパ球培養を行なった。培養終了6時間前にcolcemid(0.2μM)を培養液中に添加0.075M KCl溶液・Carnoy固定液による低張・固定処理を行ない、air-dry法により標本を作成した。ディーゼルタルール或はタバコタルールはDMSOに溶解後PBSにて必要な希釈を行ない、100μg/ml或は200μg/mlの最終濃度で全培養時間、培養液中に添加された。その結果、SCE誘発性に関しては個人間での差が大きいものの、特にろ紙法採取によるタバコタルールによって高いSCE誘発が認められた。

II 遺伝性好発癌性疾患患者(Xeroderma pigmentosum, XP; Ataxia telangiectasia, AT; Fanconi anemia, FA及びBlooms syndrome, BS)由来リンパ芽球様細胞をprimaryのリンパ球と同様の培養液にて継代培養を行ない、BUdR(20μM)添加後2細胞周期間、1~200μg/mlの濃度のディーゼルタルールへの暴露を行なった。primaryリンパ球と同様の方法にて標本を作成、誘発SCE頻度を観察した所、XP或はBS細胞では正常細胞に比べて高感受性が、ATでは正常細胞とほぼ同程度の感受性が、FA細胞に於いては低い感受性が観察された。

以上の結果は、1)ディーゼルタルールは末梢リンパ球に於いて量-反応関係を伴ってSCEを誘発する、2)ディーゼルタルール或はタバコタルールによるSCE誘発性に関しては感受性の大きな個人差が観察される、等の事実を示しているものと思われる。

## P19

ニトロビレンの変異原性に及ぼす共存物質の影響—ディーゼル排ガス粒子抽出物—

松下秀鶴\*, ○岡尾正之\*, 後藤純雄\*, 李章錦\*\*, 遠藤省\*\*\*, 村田元秀\*\*\*  
\* 国立公衆衛生院, \*\*東大・生産研, \*\*\*麻布大

(目的)ニトロビレン類は強い変異原性を有し、実験動物に悪性腫瘍を発生させ、かつ環境中からの検出例も数多くあることから、ニトロアレンの代表的癌・変異原物質として強い関心が寄せられている。前回、数種の多環芳香族炭化水素(PAH)が1,6-ジニトロビレン(1,6-DNP)のdirect acting mutagenとしての活性を低下させる一方、promutagenとしての活性を増大させることを報告した。そこで、今回は実際に種々のPAHが含まれている環境試料(ディーゼル排ガス粒子抽出物)とその分画物がニトロビレン(1-NP)や1,6-DNPの変異原性にどのような影響を及ぼすかを調べた。

(方法)ニトロビレン類は合成により得た。これに作用させるディーゼル試料は溶媒抽出により得た粗抽出物とその分画物(酸性、中性、塩基性の各成分)を用いた。変異原性試験はサルモネラ菌TA98を用い、アレインキュベーション法を行った。

(結果)1-NP、1,6-DNPともにdirect acting mutagenとしての活性はディーゼル排ガス粒子抽出物の添加により一般に低下した。その効果は粗抽出物>中性成分>酸性成分の順であり、塩基性成分による効果はあまり認められなかった。一方、promutagenとしての活性はディーゼル排ガス粒子抽出物の添加により増加傾向を示し、その効果はdirect acting mutagenに対する場合と同様で、粗抽出物>中性成分>酸性成分の順であった。これらの結果は、実際の環境中でもニトロビレンの変異原性がPAH等共存物質の影響を受けており、その効果を十分に考慮する必要があることを強く示唆している。

## P20

二酸化窒素中におけるアスファルトの光化学反応生成物の変異原性

○玉川勝美<sup>1)</sup>, 三島靖子<sup>1)</sup>, 関敏彦<sup>2)</sup>, 角田行<sup>2)</sup>, 久松由東<sup>2)</sup>, 松下秀鶴<sup>2)</sup>

1)仙台市衛生試験所 2) 国立公衆衛生院

(目的)寒冷地における冬期間のスパイクタイヤによる粉塵公害は大きな社会問題となっている。粉塵の主要成分であるアスファルトは、それ自体には変異原性は認めらない。しかし、実際の環境中では光やNO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>等によって種々に変化を受けている可能性が考えられる。そこで、本報ではNO<sub>2</sub>中におけるアスファルトの光化学反応生成物についてその変異原性の有無を検討した。

(方法)アスファルトはベンゼンに溶解後40cmのガラス繊維フィルターに所要量ずつ均一に塗布した。フィルターを反応容器(約5.6l)内にセットしパーミエーション管法により調整した10ppmのNO<sub>2</sub>を空気気流(700ml/min)とともに反応容器内に充填し、高圧水銀ランプ(400W)を用いて光化学反応を行った。反応後フィルターをベンゼン:エタノール(3:1)により超音波抽出しタール分を得た。つぎに一定量のジエチルエーテルに可溶化後、DMSOを加え均一化した。減圧下エーテルを充分に除去し、残ったDMSO溶液を変異原性試験の試料とした。変異原性試験はAmesらの方法を一部改良した矢作らのプレインキュベーション法により行った。測定菌株としてはS. typhimurium TA98, TA98NR, TA98/1,8-DNP<sub>6</sub>を用いた。

(結果)反応系にNO<sub>2</sub>を加えない場合には菌株-S-9 mix添加の有無にかかわらず光化学反応生成物に変異原性は認められなかった。しかし、NO<sub>2</sub>中で反応を行った場合にはTA98, -S-9 mixの系で比較的強い変異原性が認められ(705/100μg), フレームシフトタイプの直接変異原が生成していることが考えられた。また、この変異原性はTA98NRおよびTA98/1,8-DNP<sub>6</sub>を用いた場合には著しく減少したことから、ニトロアレン類によることが推測され、特に、1,8-ジニトロビレン等のジニトロ体の存在が強く示唆された。また、アスファルトのフィルターへの塗布量と変異活性の関係を検討した結果、総変異活性はアスファルトの塗布量にかかわらずほぼ一定であったことから変異原物質の生成はアスファルト塗布表面で起こっていることが推測された。

P21 *Forward mutation* 法による室内空気浮遊粒子粒径別の変異原性

高木敏彦\*, 後藤純雄\*, 加藤幸彦\*\*  
村田元秀\* 松下秀鶴\*\* (麻布大, 独立公衆衛生院)

(目的) 我々は1日の大部分を室内あるいはこれに準ずる空間で過ごしている。したがって室内空気中の変異原性物質による汚染状況を調べることは、がん対策上重要である。室内汚染源の1つにタバコ副流煙があげられる。タバコ副流煙中の粒子状成分に対する変異原性試験は比較的よく行われているが、ガス状成分についてはあまり行われておらず不明な点が多い。そこで本研究では、タバコ副流煙中から粒子状物質を粒径別に分級捕集し、その変異原性を *Forward mutation* のマイクロ化法(60年度本学会で発表を用いて測定した。(方法) 室内空気(研究室の談話室内)中の粒子状物質を低騒音超微粒子サンプラー(アンダーセンエアーサンプラーの改良型)を用いて  $20 \text{ l}/\text{min}$  の流量で捕集し、石英フィルター上に捕集された粒子状物質をヤンセン-エタノール(3:1, v/v)を溶媒とする超音波抽出法で抽出した。得られたタール状物質を DMSO に溶解し変異原性試験に供した。また、S-9 は PCB(kc-500) により酵素誘導したラット肝から調製して用いた。

(結果) 1) 上記サンプラーにより  $12.1 \sim 0.06 \mu\text{m}$  の粒径まで 11 段階およびバックアップに分級された各試料は 3 日間のサンプリングで本変異原性試験法に対して十分な試料( $0.2 \sim 2 \text{ mg}$ )が得られることをみとめた。2) 得られた試料の中で比較的多量に得られたのは  $0.33 \sim 0.76 \mu\text{m}$  の粒子であった。3) 各試料の変異原性試験結果は良好な Dose-response 関係を示すと共に、またその 1 次回帰式から得られた変異原活性は、 $0.33 \sim 0.76 \mu\text{m}$  粒径試料に高く、さらに  $12.1$  および  $8.5 \mu\text{m}$  の試料も他の試料に較べて若干高い変異原性を示すことをみとめた。

P22 タバコ副流煙中のガス状成分の変異原性

高橋清\*, 後藤純雄\*, 遠藤治\*, 村田元秀\*,  
松下秀鶴\*\* \* 麻布大, \*\* 国立公衆衛生院

(目的) 我々は1日の大部分を室内で生活している。したがって、室内空気中の変異原性物質による汚染状況を調べることは、がん対策上重要である。室内汚染源の1つにタバコ副流煙があげられる。タバコ副流煙中の粒子状成分に対する変異原性試験は比較的よく行われているが、ガス状成分についてはあまり行われておらず不明な点が多い。そこで本研究では、タバコ副流煙中から粒子状物質を粒径別に分級捕集し、その変異原性を直接細菌に曝露する方法を用いて調べた。

(方法) タバコ副流煙は、内容積  $0.5 \text{ ml}$  のアクリル製チャンバー内で 10 本あるいは 30 本自然燃焼させ、ファンを回して均一に攪拌したもの用いた。粒子を除く操作は静電捕集装置および石英センイフィルターを用いたが、静電捕集器は電圧をかけた場合とかけない場合の両条件下で行った。吸引流量は  $1 \text{ l}/\text{min}$  とし、曝露時間は 60 分とした。試験株には TA100 を用いた。また、ガス状成分を試験菌株と効率よく接触させるために、ソフトアガーレ用いずにプレートを作成し、これを 31 のガラス製チャンバー内のステンレス架台にフタをはずして逆にセットし、変異原性試験を行った。

(結果) いずれの条件下でも対照値よりも高い復帰変異コロニー数(1例を除き 1.5 倍以上)が得られ、タバコ 30 本曝露群の方が 10 本曝露群より若干高い値が得られた。また、静電捕集装置を作動させた場合の方がさせない場合よりも若干高い値が得られた。これららの結果は、室内空気汚染物質、特に変異原性物質による曝露低減対策は、粒子状物質に対してのみでなくガス状物質に対してもこうする必要があることを示唆している。

P23 間接喫煙と尿中変異原 — ブルーセルロース・カラム法による評価

早津彦哉 早津聰子 (岡山大・兼)

われわれは、喫煙によって、尿中のフレームシフト型変異原の量が急速に増加することを明らかにした[Kobayashi, H., Hayatsu, H., Gann, 75, 489 (1984)]。この実験では、尿をブルーコットンで抽出したが、今回抽出の簡便自動化を目標として、ブルーセルロースパウダーを用いたカラム法を開発し、さらにこれを用いて、間接喫煙による尿中変異原変動を検討したので報告する。

ブルーセルロースパウダーは、山陽国策ペルア製の K C ロックを C.I. Reactive Blue 2 で染めて作成した。銅フタロシアニンスルホニ酸の含量は、ブルーコットンとほぼ等しい。このパウダー  $0.2 \text{ g}$  をつめたカラムを作り、変異原性物質の吸着、溶出を行なった。吸着は水溶液を通過させ、溶出はメタノール-アンモニア(1000:1)で行なった。ブルーコットンの場合と異なり、ヒスチジンが吸着することが認められたが、2% 食塩水でカラムを洗浄することによって、ヒスチジンは完全に溶出した。そこで、喫煙者尿について、本法とブルーコットン法によりサルモネラ菌 TA 98, +S9 での変異原性の検出をしたところ、両法ではほぼ等しい高感度の陽性結果を得た。対照の非喫煙者尿は陰性であった。

食事をコントロールした 5 名の非喫煙者が、容積  $50 \text{ m}^3$  のほぼ密閉状態の室内に居て、2 時間にわたり 32 本のタバコ(ピース)を燃焼させてその煙を呼吸した。実験前と実験後の全尿について、ブルーセルロースカラム法によって TA 98, +S9 の復帰変異コロニー数を調べたところ、全員について有意差は認められなかった。この結果から、間接喫煙で、尿中の変異原性に大きな変動があるとは考えにくい。

P24 イオン交換繊維を用いたタバコタール変異原性成分の分離

○沢幡 正、沢野 聰子、田中 健一  
(東レ、安全性試験室)

## P25

Total Diet Study による日常食の変異原性について IV. 陰膳法による一人一日当たりの食餌中の変異原活性

○ 麻野間正晴, 宮部正樹, 永井祐治, 田村征男, 坂部美雄 (名古屋市衛研)

これまでに、厚生省汚染物研究班のマーケットバスケット法により調製した、57および58年度の当地域住民の平均的な食餌試料について、一人一日当たりに摂取する変異原活性の総量を求め、報告してきた (本学会12および14回大会)。

食餌中の変異原活性は調理方法、調理条件および食品材料等の要因により、大きく影響されることが知られている。それ故、実際の食餌では個々の献立の違いにより、変異原活性がかなり変動することが予想されるため、個人が実際に喫食している食餌中の変異原活性を調べることは意義のあることである。そこで今回は特定集団または個人に対する環境汚染物質の摂取量調査に適している陰膳法により、名古屋地区の専業主婦が実際に喫食した一日分の食餌を採取し、変異原活性の総量を求めた。さらに、この結果と前に報告したマーケットバスケット法により得られた結果との比較検討を行った。

変異原の抽出は前報と同様の方法により行った。すなわち、各人一日分の食餌について可食部を探取し、重量を測定後ホモゲナイズした。その約半量をとり、クロロホルム-メタノール (2:1) およびメタノールで抽出した。抽出物はアセトン (A)、クロロホルム (C)、メタノール (M) を用い、A、C-M (2:1)、C-M (1:1)、C-M (1:2)、M の順に5画分に分画し、各画分について *Salmonella Typhimurium* TA98 および TA100 により変異原活性を測定した。また同時に、各画分についてブルーコットンによる変異原の抽出も行った。

その結果、今回行った陰膳法では一人一日当たりに摂取する変異原活性の総量は、個々の食餌により、かなりの相異がみられ、個人間および日間にによる変動が大きかった。また、マーケットバスケット法との間に差異がみられた。

## P26

調理食品の突然変異原性について VI 動物性食品の変異原活性と脂質組成

村岡知子、大野佳美、大橋良子、藤井久美子、加藤真理、久岡祥子

山陽学園短期大学 食物栄養

われわれは、日本人の日常食一食当たりのフレムシフト型変異原活性測定を続けている。

これまで、集団給食用の大量調理食品、家庭用の一献立ごとの食品などについて調べて来た。

本年は、三食と食卓を通して、栄養学的にバランスのとれた食品が摂取出来るように考慮した献立を、それぞれの季節ごとに調製し、それらの食品ごと、一献立ごとの一人当たりの変異原活性を測定し、従来の結果と比較検討した。

一方 獣鳥肉類については、4種類の調理方法による焼き肉料理として比較したところ、それの一食当たりの変異原活性は、焼き魚の場合よりも低かった。これは調理に際して用いた植物油が変異原活性の生成を抑制している結果かもしれない。

すでに焼き魚で脂肪含量の低い魚では生成する変異原活性が高いことを認めており、又早津らの脂肪酸の変異原活性抑制効果についての報告もある。

そこで食品材料中の脂肪含量とその組成、調理過程での脂質の化学変化などが、その調理食品の変異原活性の消長にいかに関与するかを比較検討したので報告する。

活性物質の抽出には、青綿吸着法を用いた。変異活性は、サルモネラ菌 TA98 を用い、プレインキュベーション法によった。 S-9 mix は、PB-BF 誘導の S-9 を用いた。

## P27

Blue resin による beef extract MeIQx の分離

○ 小原淑子 有元佐賀恵 斎藤寛 御松正樹 田中善正 早津彦哉 (岡山大・薬)

ブルーコットンは銅フタロシアニンスルホン酸を脱脂綿に結合させたもので、食品の加熱で生ずる変異原を吸着分離するのに有効である。今回支持体として脱脂綿ではなく、ポリスチレン樹脂を用いて beef extract 中の MeIQx を定量したので報告する。

銅フタロシアニンテトラスルホン酸ナ (CuphS) をポリスチレンアニオン交換樹脂アンバーライト IRA-900 と混合するとこの色素は強固に吸着し、有機溶媒で洗っても溶出しなくなる。こうして作った CuphS 25 $\mu$ mol/g のもの (blue resin) は、Trp-P-Z, MeIQx, IQ を水溶液から吸着し、メタノールで溶出すると、これら変異原が高収率で回収できることがわかった。そこで Difco bacto beef extract の水溶液を blue resin のカラムに通し、カラムを水洗後、メタノールで溶出し変異原性フラクションを得た。これをシリカゲル TLC、次いで HPLC によって分離したところ、MeIQx が高純度に得られることがわかった。この結果から MeIQx の beef extract 中濃度は 205 ng/g と推定された。Blue resin は beef extract の MeIQx を精製する第一段階として非常に有効であることがわかった。

Blue resin からの変異原の溶出は、blue cotton と異なり、多くの場合アンモニアの添加が不要で、メタノールのみで行なうことができる。従って、アルカリ性で不安定な変異原物質の精製にも適していると考えられる。

## P28

加熱食品の変異原性とニトロビレン類の定量

○ 西藤佳子、木内武美、植島基雄、大西克成 (徳島大・医・細菌)

食物中の高変異原物質としては塩基性画分に含まれるヘテロサイクリックアミン類がよく研究されているが、他の画分についての報告は少ない。我々は焼鳥中から 1-nitropyrene (1-NP) を検出し本学会で発表した。今回は、種々の加熱食品の変異原性を測定し、その中性画分に含まれる 1-NP および 1,6-dinitropyrene (1,6-diNP) を定量した。

肉5種、魚4種、野菜10種を都市ガス上直火で食べごろに焼き、ベンゼン:エタノール (4:1) で超音波抽出した。これらをエーテル溶性の中性、酸性、塩基性画分に分画し変異原性を測定した。又、中性画分の 1-NP および 1,6-diNP を酵素還元アミノ化/HPLC・ケイ光法で定量した。

加熱食品の粗抽出物の変異原性は TA98 株 (+) S9 が最も高く、肉: 753~8334 revertants/plate/g of grilled food、魚: 716~1929、野菜: 26~1000 であり、(-) S9 で肉: 61~2836、魚: 41~159、野菜: 1~68 であった。また、TA100 株に対する変異原性は TA98 株に比べて低かった。野菜のうちではシタケ、ナスが比較的高い変異原性を示した。焼肉の場合、タレを付けると TA98 (+) S9 での変異原性は低下し、焼鳥では中性画分の TA98 (-) S9 での変異原性の上昇がみられた。脂肪の少ないササミではタレを付けても中性画分の TA98 (-) S9 での変異原性は上昇しなかった。加熱食品中の 1-NP および 1,6-diNP を定量したところ、肉類では 1-NP が 0.01 以下~11.9 ng/g of grilled food の範囲で検出され、1,6-diNP は、焼鳥 (0.043 ng/g) とベーコン (0.10 ng/g) から検出された。1-NP の含量はタレの添加により増加した。魚ではアジとサバから 1-NP がそれぞれ 0.35 ng/g, 0.45 ng/g 検出された。野菜では、脂肪の多いトウモロコシでのみ 0.53 ng/g の 1-NP が検出された。加熱食品中の 1-NP および 1,6-diNP が TA98 株 (-) S9 での全変異原性に占める割合は、焼肉で 1-NP が 3.4% 以下、1,6-diNP が 4.6% 以下であり、魚では 1-NP が 10% 以下、トウモロコシで 1-NP が 8.4% であった。

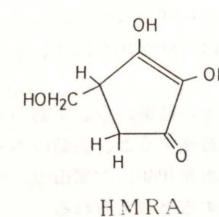
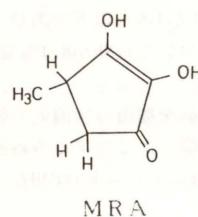
以上の結果から、脂肪の多い食品を都市ガス直火で焼いて調理すると、脂肪の不完全燃焼により生ずる芳香族炭化水素 (PAH) と都市ガス中の NO<sub>2</sub> によりニトロPAH が生成すると考えられる。

## P29

### 加熱デンプン中のDNA損傷物質

○葛西宏、戸田直子、中山昌子、山泉二郎、西村眞（国立がんセンター研・生物）、及川淳（東北大・抗酸菌研）

我々は先に種々の酸素ラジカル発生系により、DNA中のアミノ基のC-8位が水酸化される事を見出した。この新しいタイプのDNA修飾反応は細胞内でも起こり、またDNA中の8-ヒドロキシグアニンはDNA複製中に塩基の読み間違いを起こす事も示唆された。そこで日常食品に存在し、酸素ラジカルの発生により8-ヒドロキシグアニンなどのDNA損傷を引き起こす物質の検索を行った。加熱デンプンからスーパーオキサイドの発生（NBT還元）および8-ヒドロキシデオキシグアノシンの生成を指標にして2種の化合物を単離した。これらの物質の構造を質量分析、<sup>1</sup>H-NMRなどによりメチルレダクチン酸（MRA）およびヒドロキシメチルレダクチン酸（HMRA、新規化合物）と同定した。HMRAはサルモネラ菌TA100, 102, および104に対し弱い変異原性を示した。またMRAはSCE陽性であった。これらの物質の日常食品中の含量をフォトダイオード・アレーによる高速分光検出器の接続した高速液体クロマトグラフィーにより定量したところ、焼おにぎり、トースト、カラメル、麦茶等からかなりの量のMRAおよびHMRAが検出された（MRA 10-75 μg/g; HMRA 80-750 μg/g）。これらの物質の遺伝毒性は弱いが、食品中の含量が多いため今後さらに発がん性、発がんプロモーター活性等を調べる予定である。



## P30

### Indole及びその誘導体の亜硝酸処理により生じる変異原性 ○落合雅子、若林敏二、杉村 隆、長尾美奈子（国立がんセンター研究所・発がん研究部）

我々は、日本人の多く摂取する食品、醤油や白菜には、亜硝酸処理により変異原性を示す変異原前駆体が含まれていることを見出した。また、それら前駆体の多くは、indole化合物であることも明らかにした。自然界には、種々のindole化合物が存在している。そこで、いろいろなindole化合物の亜硝酸処理により生じる変異原性について調べた。

indoleとその7種の誘導体、L-及びD-tryptophanとその9種の誘導体、 $\beta$ -carbolineとその11種の誘導体について調べた。試料は蒸留水に溶解し、citrate-phosphate buffer (pH3)を加え、必要な場合には、conc. HClでpH3に合わせた。その後、 $\text{NaNO}_2$ を50mMになるよう加え、遮光下、37°C、1時間反応させた後、ammonium sulfamateを加えて過剰の $\text{NO}_2^-$ を分解し、*Salmonella typhimurium* TA100、-S9mixで変異原性を調べた。また、31種の物質の中で、各グループの代表的な物質、及び変異原前駆体活性の強い物質、8種類は、*S. typhimurium* TA100, TA98, ±S9mixで変異原性を調べた。どの場合でも、 $\text{NaNO}_2$ を加えなければ、変異原性を示さなかった。

調べた31種の物質のうち、22種の物質が、亜硝酸処理により、*S. typhimurium* TA100、-S9mixで変異原性を示した。なかでも、たばこの煙中に存在する1-methylindole, 2-methylindoleは非常に強い変異原前駆体活性を示し、それらの比活性はそれぞれ、615,000、129,000 revertants/mgであった。また、1-methyl-DL-tryptophan, harmaline、および(-)-(1S,3S)-1,2-dimethyl-1,2,3,4-tetrahydro- $\beta$ -carboline-3-carboxylic acidも非常に強い変異原前駆体活性を示し、それらの比活性はそれぞれ184,000、103,000および197,000 revertants/mgであった。なお、変異原性を示した22種の化合物のうち、ジペプチドを除いた20種の物質で、環境中の存在が報告されているものは、17種である。

このように、indole化合物には、亜硝酸処理により変異原性を示す物質が多く、また自然界、特に植物などに広く分布しているので、その変異原性・癌原性を調べることは重要である。（文部省科研費・がん特別研究による援助をうけた。）

## P31

### Acetaminophenと亜硝酸との反応による変異原性物質の生成 ○太田隆文、後藤由香、亀山朋子、滝谷昭司（東京理科大・薬）

【目的】醤油の亜硝酸処理により生成する変異原の前駆体の一つとしてtyramine(I)が確認され、その変異原の構造は4-(2-aminoethyl)-6-diazo-2,4-cyclohexadienoneであることが明らかにされているが、<sup>1)</sup> 最近加藤らにより医薬品Bamethane(II)を亜硝酸処理した際にも同様の構造の変異原の生成が報告されるなど、<sup>2)</sup> phenol系化合物の亜硝酸処理による変異原の生成と、変異原の構造の特性が明らかにされつつある。今回我々は風邪薬として頻用されているAcetaminophen(Paracetamol)(III)について亜硝酸処理による変異原生成の可否及び反応生成物を検討した。

【方法と結果】日局(III)をWHOのnitrosation testの条件下亜硝酸Naと反応させ、ammonium sulfamateにより過剰の亜硝酸を分解後、反応混合物の変異原性をAmes法により調べた。反応時間1時間で*Salmonella typhimurium* TA 100, TA 98に対しS9(+)で変異原活性が認められ(TA 100:250 rev./ $\mu$  mole(III); TA 98:80 rev./ $\mu$  mole(III))、4時間以上ではS9(-)でも同程度の活性が認められた。この活性は既に報告された(I) (II)の場合に比較してかなり低く、S9(+)での活性が主であることもあわせ、(III)の亜硝酸処理で生成する変異原はdiazophenol型のものとは異なることが示唆された。反応生成物を検索した結果、主生成物は2-nitro-4-acetaminophenolと同定されたが、これは変異原性を示さなかった。他の反応生成物については現在検討中である。

1) M. Ochiai et al., Gann, 75, 1, 1984

2) T. Kato et al., 日本薬学会106年会, 31 1-5, 1986

## P32

### Mutagenicity of certain isolated fluorescent substances from drinking water of Blackfoot disease endemic area in south-western Taiwan.

○洪清霖<sup>1</sup>、董一致<sup>2</sup>（台北医学院・公衛<sup>1</sup>・生化<sup>2</sup>）  
呂錚洲、黃伯超（台湾大医学院・生化）  
清水英佑、広田秀美、鈴木勇司（慈恵医大・公衛）

Blackfoot disease is an endemic peripheral vascular disease in Taiwan. Epidemiological studies have suggested that high arsenic content in the drinking water of artesian wells in a possible causal factor for the occurrence of the disease. Recently, fluorescent compounds which may be responsible for the disease have been isolated from the drinking water of the artesian wells.

Two water soluble extracts(Sample I & III) and another water insoluble part (Sample IV) were obtained from this drinking water. The strongest fluorescence has been observed in Sample IV, followed by Sample III and least in Sample I.

Mutagenicity test was carried out above 3 samples using *S. typhimurium* TA100 and TA98 with and without S9Mix. Sample IV showed strong mutagenic activity with dose-response in both strains of bacteria with and without S9Mix. Sample III showed weak positive mutagenicity in both strains without S9Mix. Sample I gave very weak response in TA98 without S9Mix, only.

Bladder cancer prevalence rate has been significantly higher at blackfoot endemic area than those of nonendemic area by epidemiological study made by the Dep. Urology and Public Health, Taipei Medical College. What etiologic concern should be notified? Could this results of mutagenicity test give partial clues to support current hypothesis?

It is worthy to continue our study.

## P33

有機発泡剤の変異原性について

蜂谷 紀之, 須磨 純子, 滝澤 行雄  
(秋田大・医・公衛)

有機発泡剤は、各種プラスチック樹脂およびゴム等をはじめとするポリマー中に気泡構造を形成するための薬剤として、現在いくつかのものが工業的に利用されている。生活関連物質の安全性評価の一環として、発泡剤2種類の変異原性について検討した。

4,4'-oxybis(benzene sulfonylhydrazide) (O B S H) は、高濃度では緩衝液中一部不溶性であったが、ネズミチフス菌TA97, TA98, TA100などに対して復帰変異を誘発した。この変異原性はTA100において  $200\text{ }\mu\text{g/plate}$  のとき最大となり、-S9mixで自然誘発数の6.0倍に、+S9mixで5.1倍であった。O B S Hはスルホニルヒドラジド化合物の一種で、155~160°Cにおいて分解し  $\text{N}_2$  を発生する。O B S Hの熱分解生成物にも同様の変異原性が認められたがその活性は低下していた。したがってO B S Hの変異原性発現機構においてはその分解反応との関係が考えられ、ラット肝S9mix酵素はこの活性化にはほとんど関与しないものと考えられる。

azodicarbonamide (A D C A) はアゾ化合物型の発泡剤の一つであり 200~210°Cの分解温度で  $\text{N}_2$ ,  $\text{CO}$ ,  $\text{CO}_2$  を発生するが、これについても変異原性の報告がなされている。A D C AについてもO B S Hと同じように熱分解反応の影響を調べた。

O B S HおよびA D C Aについては、さらに各種DNA損傷性試験ならびにマウス骨髄小核試験を実施した。このうち小核試験では、最大耐量(80 mg/kg: A D C A, 500 mg/kg: O B S H)までの腹腔内投与による小核の誘発は認められなかった。

## P34

カーボンブラック含有OA用記録材料および印刷用インキ類の検体調製法に関する検討  
○坂本京子、勝村利恵子、岩原繁雄(食薬センター、秦野研)

この数年来、カーボンブラックやそれを含有する複写機用トナー、OA機器用記録材料、印刷インキなどについての細菌を用いる変異原性試験の実施件数が増加しているが、陽性結果を得たものも多々ある。カーボンブラックは原料、製法、およびその分子構造上の理由により様々な不純物を含んでいるが、その不純物によって変異原性を示すことがしばしばある。カーボンブラックから不純物を溶出させるための溶媒、抽出操作法等についてこれまでにも、様々な検討がなされているが、溶媒等の選択によって、変異原性試験の結果に大きな差が現れることが知られている。この様な現象は、他のcomplex mixtureについてもときおり見られることであり、試験時の検体調製に際しては、これらの点について十分留意する必要がある。

そこで我々はこれまでに得られたカーボンブラックを始めとする印刷用インキあるいはOA用の記録材料を用いて、溶媒および抽出法について検討をおこない、種々の条件によって得られた抽出物の変異原性試験の結果について比較をした。さらに印刷された紙からのインキ由来の変異原抽出の試みとして、新聞紙を種々の溶媒を用いてソックスレーにかけ、その抽出物について変異原性試験をおこなった。

被検物質はDMSO, acetone, benzene, 界面活性剤等を用いて、超音波処理、遠心沈殿法、あるいはソックスレーによる抽出操作をおこない、得られた抽出物について、Sal. typhimurium TA100およびTA98を用いて、プレート法によって試験をおこないた。いずれの溶媒を用いても、変異原性の検出が可能な物が多く、界面活性剤を用いて初めて変異原性が検出されるものもあった。また、新聞紙をacetoneによってソックスレーで抽出した時、試験した13紙のうち3紙が弱いながら変異原性を示した。

以上の試験によってえられた結果にもとづき、complex mixtureについて細菌を用いる変異原性試験を実施する際の、検体調製法に関するいくつかの問題点について考察する。

## P35

umu-lac融合遺伝子を用いた変異原検出系(IV) -ノルハルマンおよびハルマンのSOS反応誘発-

○小田美光、中村清一、沖 岩四郎(大阪府公衛研)

(目的)我々は、umu-lac融合遺伝子のプラスミドをもつネズミチフス菌を用い突然変異生成に関与するumuC遺伝子の発現をlacZ遺伝子にコードしたβ-ガラクトシダーゼの酵素活性を指標としたDNA損傷物質(変異原)の検出法を確立した。今回は、Amesテストで変異原性を示さないが、Comutagenic作用をもつノルハルマンおよびハルマンによるSOS反応誘発性と変異原性について検討したので報告する。

(方法)umu-テストは、常法により対数増殖期の細胞(TA1535/pSK1002)に薬物を加え、37°C, 5時間培養し、その酵素活性をMillerの方法に準じて測定した。突然変異試験は、大腸菌KMBL3835を用いて  $\text{trpE9777} \rightarrow \text{Trp}^+$  の復帰変異を調べた。薬物を37°C, 3時間処理し、リン酸緩衝液で洗浄後、生存コロニー数と復帰変異コロニー数とを求めて、誘発突然変異頻度を算出した。

(結果)umu-テストでノルハルマンおよびハルマンは、いずれも  $100\text{ }\mu\text{g/ml}$  で有意にβ-ガラクトシダーゼ活性を増加させた。突然変異試験では、ノルハルマンが、 $150\text{~}250\text{ }\mu\text{g/ml}$ 、ハルマンが、 $50\text{~}150\text{ }\mu\text{g/ml}$  の濃度範囲で有意に誘発突然変異頻度を上昇させた。

以上の結果より、ノルハルマンおよびハルマンは、SOS反応を誘発することのみならず突然変異をも誘発することを見出した。これらの知見は、umu-テストが変異原の検出法として有用であることを示している。

## P36

ジメチルスルホキシド(DMSO)のSOS反応誘導性について

○中村 清一、鶴川 昌弘、小田 美光  
(大阪府公衛研)

ここ数年、我々は新しく開発したumuテストにより多くの化学物質のSOS反応の誘導性を調べてきた。DMSOはバクテリアに対する毒性が低いうえ色々の化学物質をよく溶かすことから各種の変異原テストで試験物質の溶媒として広く使われている。我々も水に不溶性の物質の溶媒としてDMSOを使用しているが、DMSOそのものもumuテストでやや高い値を示した。そこで、DMSOのSOS反応誘導性をさらに詳しく調べると同時にDMSOと構造の似た物質のSOS反応誘導性も調べた。

その結果、DMSOは濃度に依存してSOS反応を誘導し、その指標であるβ-ガラクトシダーゼ活性は上昇した。β-ガラクトシダーゼ活性の最高値はDMSO  $250\text{ }\mu\text{l/assay}$  ( $275\text{ mg/ml}$ )で  $300\text{ unit}$  (ベースレベルの約4倍)であった。ベースレベルの2倍のβ-ガラクトシダーゼ活性を示すDMSOの濃度(最低検出濃度)は  $150\text{ }\mu\text{l/assay}$  ( $66\text{ mg/ml}$ )であった。なお、DMSOの酵素反応への影響、DMSOの規格・品位による違いは見られなかった。

この結果から、DMSOは非常に高濃度でもSOS反応の誘導はやや弱いが誘導されたβ-ガラクトシダーゼ活性には量-反応関係が見られたことからSOS反応誘導物質と思われる。一方、DMSO類似物質はDMSOに比較して毒性が強いこともありSOS反応誘導性は観察されなかった。

**P37**

シメチジンのヒト・リンパ芽球様細胞における突然変異原性の欠如 <sup>o</sup> 異 純一、豊田万里子、立花 章、武部 啓 (京都大学・医学部・分子腫瘍学、放射能基礎医学)

環境変異原の1次スクリーニングとして細胞を用いて得られた結果から、直ちにヒトに対する影響評価を行うのはかなりの飛躍を伴うことは否定できない。また2次スクリーニングにこれまでよく使用されてきた齧歯類動物とヒトとでは環境変異原の誘起するDNA損傷に対する修復機構がかなり異なっていることが近年明らかになってきた。我々は十分高い推計学的精度で突然変異頻度を求めるのに必要な大量の細胞を比較的容易に準備することができるヒト・リンパ芽球様細胞に着目して、マイクロウェル・タイトレーションプレート上で限界希釈に基づく彷徨試験を行ってヒト体細胞突然変異誘発の有無を種々の環境物質について検定してきた。

ヒスタミンの胃液分泌作用に関するH<sub>2</sub>レセプターの特異的拮抗物質で、消化性潰瘍治療剤として広く用いられているシメチジンは抗白血病作用や顆粒球減少などの骨髄抑制、抗ウイルス作用を有する可能性が示唆されている。生体内でシメチジンがニトロソ化をうけている証拠は無いが、亜硝酸と塩酸の共存下に生じたニトロソシメチジンはエームス・テストやCH<sub>3</sub>O細胞における変異原性が強く、また姉妹染色分体交換や染色体異常を誘発することが報じられている。そこで我々はヒト体細胞におけるシメチジンの変異原性の有無を検討した。

37°C、1時間のincubationによりシメチジンは0.4 mM以上で濃度依存性に正常人由来リンパ芽球様細胞TK-6に対する細胞致死効果を示した。細胞増殖曲線の指數関数状増加部分のDay 0への外挿により求めたD<sub>37</sub>は約0.7 mM、D<sub>9</sub> 0.25 mM、D<sub>0</sub> 0.45 mMであった。1.2 mM (300 µg/ml)迄の各濃度で6チオグアニン抵抗性 (Hprt座)、トリフルオロチミジン抵抗性 (TK座)、及びウアバイン抵抗性 (Na-K依存ATPase座)何れのマーカーにおいてもシメチジンによる有意の突然変異頻度上昇は認められなかった。

**P38**

タイ国の環境発がんプロモーターについて  
; 南洋桐油  
・ 廣田 満、藤木博太、堀内孝彦、菅沼雅美、杉村 隆  
(国立がんセンター研)

南洋桐 (*Jatropha curcas* L.) は、強力な発がんプロモーター、TPAを含むハズと同じトウダイグサ科に属する植物であり、構造未知の皮膚刺激性物質を含む。最近、タイ国ではその種子油を石油の代替燃料に用いる計画がなされている。タイ国のがんの臓器別発生率によると、皮膚がんは、4.6%と先進国と比べて非常に高い。したがって南洋桐油の広範な使用は、この油に含まれるかもしれない発がんプロモーターへの接触の機会を増し皮膚がんの発生率をさらに高める可能性があると考えられる。私共は、タイ国の Dr. V. Wongchai と Dr. M. Suttajit と共同で南洋桐油に発がんプロモーターが含まれるか検討した。南洋桐油をメタノール抽出、Florisil column chromatography により精製し、皮膚刺激性分画を得た。この皮膚刺激性分画は、ODCの活性を誘導し、<sup>3</sup>H-TPAのレセプターへの結合を抑制した。この分画を用いマウス皮膚の発がん2段階実験をおこなつた。50 µg のDMBAによりinitiateしたマウスの皮膚に500 µg のこの分画を週に2回、30週塗布した。17週で最初の腫瘍が発生し、30週では、36%のマウスに腫瘍が認められた。この結果から、南洋桐油には発がんプロモーターが存在することが証明された。次に、マウス耳の発赤テストを指標として活性物質の構造解析に着手した。4.5 L の南洋桐油から、メタノール抽出、Florisil column chromatography, flash chromatography, HPLCのステップを経て、3種類の皮膚刺激性物質 A (3mg), B (1mg), C (1mg)を得た。NMRスペクトルからこれらの化合物は、いずれも高度に不飽和の脂肪酸を有する phorbol ester であることが明らかになつた。タイ国には南洋桐油の他にシナ桐油に関する問題もある。たとえば、番傘村では phorbol ester を含むシナ桐油を傘の防水に用いている。このようにタイ国では、環境発がんプロモーターとヒト皮膚がんとの関連について研究することは非常に重要であると思われる。

**P39**

In vitro染色体異常試験のデータベース  
— 951化合物についての解析 —

° 祖父尼 俊雄・林 真・松岡 厚子・沢田 稔・  
M. C. Harnois・石館 基  
(国立衛生試験所・変異原性部)

変異原性試験は比較的短期間に行えることから、これまで報告してきたデータは膨大なものとなつたおり、これらの情報の収集、蓄積、検索にはコンピュータによる管理が必要となってきている。我々は主に1971年以降の主要な学術雑誌よりin vitro染色体異常試験に関する論文を収集し、染色体異常に関するデータベースを構築し、解析を試みたので、その結果を報告する。

収集した文献はおよそ250編で、この中には951の化合物が含まれていた。このうち780は代謝活性化法によらない直接法の結果のみであり、153は代謝活性化法による場合とよらない場合の結果があり、残りの18では代謝活性化法による結果のみが報告されている。

| 代謝活性化法 | 結果  |     |     |     |    |    |     |       |      |
|--------|-----|-----|-----|-----|----|----|-----|-------|------|
|        | +   | -   | +/- | +   | +  | -  | +/- | ND ND |      |
| +      | ND  | ND  | ND  | +   | -  | -  | +/- | +     | -    |
|        | 321 | 417 | 36  | 35  | 20 | 36 | 30  | 32    | 14 4 |
| 化合物数   | 780 |     |     | 153 |    |    |     | 18    | 951  |

ND: データなし

要約すると951のうち432(45.4%)が陽性、451(47.4%)が陰性、残りの68(7.2%)では陽性と陰性の両結果が報告されている。

陽性化合物について最少有効濃度を比較すると、0.1～1.0 mMの範囲で陽性となったものが最も多く、130含まれていた。一方、陰性化合物について最高被験濃度を比較すると、1.0～10.0 mMの範囲のものが最も多く、129であった。

951化合物のうち521についてはAmes試験結果が報告されており、また121については小核試験の結果が、107では両法による結果があり、その比較結果についても報告する。さらに、197化合物については発がん実験結果も収集しており、それらについて併せて報告する。

**P40**

muc 遺伝子導入による枯草菌の変異原検出感度の改良 田ノ岡 宏、田中和彦  
国立がんセンター研究所 放射線研究部

Amesらのサルモネラ菌の変異原検出感度増強のためには、pKM101のmuc部を枯草菌pLZ2ミドに移し、感度のより高い検出システムを新しく作ることを目標にしたが、予期した以上の困難に遭遇した。

muc部を含む2KbpのDNAをpBR322のHindIII部にクローニングし、この全塩基配列をMaxam-Gilbert法によつて決めたところmucの上流プロモーター部、SOS box部分の各所に終結コドンが多く含まれていて、これらが枯草菌ベクターのプロモーターからの信号を阻止してしまった。

この上流部を除くため、BamHI分解によつて種々の切断部をもつmucを用意し、これらを再びpBR322にクローニングして、各々の切断部の構造をMaxam-Gilbert法によつて測定した。

これらをさらに、枯草菌-大腸菌シャトルベクターとして用意しておいたpTE22R (pBR322とpHWIをつなげたもの)につなぎがえた。

これらの候補フラグミドを枯草菌 (TKJ5211)に入れ、MMSおよび4NQOによるスポットテストで選別した結果、現在4ヶの候補を得た。

これらはMMSや4NQO処理後の菌の生存率を上昇させ、同時に突然変異誘発率も上昇させた。pLZ2ミドのmucの効果を示している。

これらの特性をさらに明確にして10月の学会で報告したい。

P41 umu 試験の高感度化  
—ケイ光光度法の応用—

○遠藤治<sup>†</sup>、後藤純雄<sup>\*\*</sup>、村田元秀<sup>†</sup>、松下秀樹<sup>\*\*</sup>  
\* 麻布大学、\*\* 国立公衆衛生院

(目的) 環境中の変異原の存在実態は Ames 法やその変法等により明らかとなりつゝあるが、感度上の制約により室内空気試料など極少量しか得られない環境試料に対する実態は必ずしも明らかではない。また、各種環境試料に含まれる主要な変異原を詳細に調べる場合、多量の試料とその分離を必要とするため、その調製に多大の労力と時間を要している。したがって、高感度変異原性試験法の開発は上記の諸難点を改善すると共に、環境物質の変異原性を評価する上においても非常に重要であると考えられる。そこで、本研究では細菌の SOS 反応により生産される  $\beta$ -ガラクトシダーゼ活性を指標とした試験法を取り上げ、その酵素生産量測定に従来用いられてきた吸光光度法に代えて、ケイ光光度法を用いた方法を中心と検討した。

(方法) 試験菌株はサルモネラ菌 TA 1535 / pSK 1002 を用いた。試験方法は、品川らの方法に準拠し、ケイ光法では 4-メチルウンベリフェリル- $\beta$ -D-ガラクトピラノサイドを基質としてマイクロタイタープレートによる方法を用いた。

(結果) 吸光法とケイ光法による感度を比較するため、酵素活性測定に要した反応溶液中に含まれる試験物質量を算出したところ、吸光度法に比べ、ケイ光法では 1/100 以下の溶媒対照値の 2 倍の反応が得られることが判った。この結果から、従来の吸光度法に比べてケイ光度法を用いた場合、少なくとも 100 倍の感度をえた可能性があることが示唆された。現在、実際に使用する反応溶液量等についても、その簡少化を検討している。

P42 連続的濁度測定法による Rec-assay

○坂本 豊、山本 清、中村直美、  
菊池康基 (武田薬品・中央研)

Bacillus subtilis の H17 および M45 株を用いる rec-assay の一改良法として、両指示菌株の増殖状態を光学的に連続して測定する試験を試みた。プラスチック製の honeycomb 型マイクロプレート (100 穴) を用い、いずれかの菌液 (約  $5 \times 10^7$  cells/ml) 20  $\mu$ l と検体溶液 0-80  $\mu$ l に、液体栄養培地を加え、合計 400  $\mu$ l となるように各穴に自動分注した。このプレート 1-2 枚を、37°C で連続 20-40 時間培養し、10-20 分間隔で各穴の濁度 (600 nm) を測定した。

変異原性の有無の判明している化合物 約 50 種について試験をし、H17 と M45 株に対する作用の結果をグラフ化して比較した。この条件下での濁度の変化は必ずしも菌数の増減を意味するものではないが、変異原群と非変異原性の抗生物質群では、濁度の連続的变化に特徴的なパターンが認められ、それぞれを明白に区別できた。

つぎに、通常の Ames テストで陰性、従来法の rec-assay で陽性となる化合物を試験すると、その多くは変異原型のパターンを示したが、セファロスボリン系薬物は非変異原性抗生物質型の特徴を示した。

本研究に於ける試験の実施とデータの解析には Bioscreen を用いた。

P43

変異原のプラスミド DNA に及ぼす影響  
-アルキル化剤 ENNG での検討-  
○井上 誠、佐藤忠夫、辻紘一郎  
中外製薬・開発研究所・安全性センター

アルキル化剤である N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (ENNG) は DNA に塩基置換型の変異を誘発することが知られている。Ames test でも、TA100, TA1535などの試験菌株において陽性対照物質として使用されている。

〔目的〕

われわれは、変異原物質が核酸に及ぼす変異作用を調べる目的で、プラスミド DNA に ENNG を作用させて、制限酵素による切断部位が変わらるかどうかを調べた。

〔方法および結果〕

変異原物質を作用させるプラスミド (pMM1) は、Salmonella typhimurium LT2 のヒスチジン生合成遺伝子を pBR322 上の Pst I 部位にクローニングすることにより作製した。このプラスミドは Escherichia coli HB101 ヒスチジン要求株 (His-) を非要求株にする。そこで、プラスミド pMM1 が宿主菌 (HB101, His-) 内に存在する状態 [HB101/pMM1(His+)] で、ENNG (5  $\mu$ g/plate) を作用させると、約  $4 \times 10^7$  個の菌から 18 個の His- 変異株が得られた。これらの変異株から、Alkaline lysis method でプラスミド DNA を抽出し、制限酵素 EcoRI, HincII, HindIII, HaeIII などによる切断パターンをアガロースゲル電気泳動で測定した。その結果、4 塩基対を認識する HaeIII による切断パターンは変わらなかったが、6 塩基対を認識する EcoRI, HincII, HindIII に対し、正常なプラスミドとは異なる切断パターンを示すクローニングが見いだされた。

また、in vitro の条件、すなわち、プラスミドに直接 ENNG を作用させた場合の結果についても合わせて報告する。

P44 Bubblingによるガス状物質の変異原性テスト  
(第3報)

○広田秀美、林 和夫、鈴木勇司  
清水英佑 (慈恵医大 公衛)

ガス状物質の変異原性試験をより簡便に、しかも手軽にできる方法として、我々は bubbling 法を改良し、検討を行ってきた。昨年の本学会において、塩化ビニル (塩ビ) とエチレンオキサイド (EO) が陽性にでることを報告したが、今回はガスクロマトグラフにより、さらに定量化を行ったので報告する。

〔実験方法〕

1) 試料の作製: 塩ビ (100%、製鉄化学)、EO (12% EO、88% 冷媒用ジクロルジフルオルメタン、大同酸素) を用い、10 ml の DMSO (EO はエタノール) に、165 ml/min (EO は 300 ml/min) の流量で一定時間、bubbling により吸収させた。各時間毎に希釈液を作り、試料とした。

2) ガスクロによる定量: 測定条件は、カラムに 5% Therman 3000 (Chromosorb W, 80~100 mesh, AW-DMCS, 2.5m  $\times$  3mm)、カラム槽温度 60°C、検出器温度 100°C、キャリアーガス He 30 ml/min。ただし、EO は、カラムに 5% PEG 20M (60~80 mesh)、カラム槽温度 70°C、キャリアーガス N<sub>2</sub> 20 ml/min で行い、他の条件は塩ビと同様とし、いずれも吸収後、直ちに定量した。

3) 変異原性試験: 塩ビは昨年報告した方法で、減菌済バイアルを用い、37°C、2時間、preincubation 後、通常の Ames test を行った。

〔結果と考察〕

ガスクロによる塩ビの定量値と変異原性との間に正の相関が認められた (塩ビ: r = 0.85, EO: r = 0.99, p < 0.01)。この方法では、S9 Mix による泡の発生や S9 活性の低下も起こらない上に、bubbling した溶液中の濃度を定量することにより、実際の正確な量-反応関係が得られた。

今回の定量化は、今後のガス状物質の変異原性の検出に有用であると思われる。

**P45** 細菌を用いる誘発突然変異頻度試験  
(IMFテスト)

製薬協・基礎研究部会・MFテスト  
検討サブグループ

厚生省の医薬品に関する毒性試験法ガイドラインおよび労働省の新規化合物に関する、新しい変異原性試験ガイドブックにおいては、強い抗菌性のため低濃度でしか Ames テストができない薬物、あるいはこの試験で疑がわしい結果の薬物については、さらに、Ames テスト用の菌株を用いて誘発突然変異頻度を求める試験 (IMF テスト) を実施するように求めている。これを受けて、製薬協・基礎研究部会・第三分科会・変異原性試験検討グループにおいては、IMF テストについての共同研究を 2 年前より開始し、昨年の本学会には、その成果の一部を個々に発表した。

この共同研究においては、数種の抗生物質や弱変異原の過酸化水素などについて、その時点での minimum protocol に従って課題実験を行い、手法の改良による再現性や精度の向上を図り、より実用的な方法の確立をめざした。これら検討の成果として、IMF テストの標準プロトコールを作成したので、発表すると共に、御批判を仰ぎたい。

〔共同研究者〕 大島 稔彦(山之内製薬)、恵比根 豊(第一製薬)、小野 隆昭(田辺製薬)、坂本 豊(武田薬品)、若田 明裕(山之内製薬) 〔研究協力者〕 小木曾 重文(住友化学)、吉川 邦衛(三菱化成)、梁 治子(大阪大・医)

**P46** ショウジョウバエ翅毛スポットテスト  
—N-ニトロサミンの変異原性と近紫外光の影響—  
○根岸友恵、早津彦哉 岡山大・薬

環境変異原のヒトへの危険性を考慮するうえでより高等な動物での変異原性テストの結果が、注目されている。我々はショウジョウバエの体細胞突然変異とハエ翅毛の変化で見る系を用いて、発癌性ニトロサミンの変異原性とその活性に及ぼす近紫外光の影響を調べた。当研究室で、バクテリアを用いた系で、N-ニトロソモルホリン (NMOR) のような環状ニトロサミンに近紫外光 (340~400 nm) を与えると、直接変異原性非酵素的にできることを見出している (Shimada & Hayatsu, Mut. Res., 143, 165-168 (1985))。

ハエの 3 令幼虫を集め、実験培地上に移した後ニトロサミン溶液を滴下し、25°Cで飼育した。この際近紫外光を同時に、あるいはニトロサミン除去後に照射して、活性に及ぼす影響をみた。NMOR と N-ニトロソジメチルアミン (NDMA) を 12 時間投与すると変異原性は表のようになり、バクテリアの場合に比べて NDMA の活性が強く示された。但し

| Chemicals   | Spots/wing   |              |      |
|-------------|--------------|--------------|------|
|             | Small single | Large single | Twin |
| None        | 0.59         | 0.15         | 0.02 |
| NMOR 1 μmol | 0.59         | 0.22         | 0.03 |
| NDMA 1 μmol | 1.68         | 1.04         | 0.29 |

NMOR と NDMA の用量を増やすと活性性が高くなる。

近紫外光を 50 分間、同時に照射した場合、変異原性に有意な変化はみられなかった。しかししながら、ニトロサミン処理後、12 時間照射した場合は Small single spots/wing の値が、None; 1.66, NMOR; 2.02, NDMA; 3.57 (各 1 μmol) と上昇した。他のスポットの値に変化はなかった。この結果から、近紫外光单独で、長時間照射するとハエの突然変異発現の頻度に増すことばかりか、機構については不明である。またニトロサミンとの共同作用については、さらに検討中である。

**P47** *In vitro* 染色体異常試験における  
2,3 の検討 (2)

島田弘康、○清水千春、恵比根豊、佐藤利之、山田明甫  
第一製薬(株)中央研究所

我々は、前回 *in vitro* 染色体異常試験における代謝活性化に用いる S 9 の検討を行い、S 9 には細胞毒性作用および染色体異常誘発作用のあることを報告した。

今回は、化学物質による細胞毒性と染色体異常誘発性の関係について、チャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いて若干の検討を行ったので報告する。

塩化ナトリウムを培地中に添加すると、10 mM の濃度から浸透圧の上昇が認められ、それに伴ってギャップを主体とした染色体異常の増加が認められ、100 mM (浸透圧比 1.7) では有意な増加が認められた。また、100 mM 以上では細胞毒性が認められ、300 mM では毒性作用は顕著であった。同様の傾向は他の可溶性化学物質の多くにも認められた。このことから、培地中の浸透圧の上昇に伴い、細胞死が惹起されるような機能的変化が生じ、その結果二次的に染色体異常が誘発される可能性が示唆された。

また、種々の DNA 合成阻害剤について、染色体異常誘発性と細胞毒性作用を比較検討した結果、細胞内 dNTP プール量を減少させるタイプの薬剤は、細胞毒性が発現する用量ではじめて切断型を主体とする染色体異常の増加が認められた。

これらの知見をもとに、細胞毒性作用と染色体異常誘発性の関係について考察する。

**P48** エリスロポエチン分化誘導赤芽球を用いた *in vitro* 小核試験 (1)

○仁藤 新治、近藤 靖、小野 隆昭、有行 史男、岡庭 梓 (田辺製薬・安全性研究所)

マウスの骨髄細胞を用いる *in vivo* の小核試験は変異原物質の検出法として繁用されている。しかしながら *in vivo* 試験ではマウスの性差や系統差が成績を左右したり、骨髄移行性が低い変異原物質や活性体が不安定な物質は検出しがたいなどの問題点が指摘されている。

今回、我々はマウスの骨髄から分離した赤芽球を造血因子であるエリスロポエチン (EPO) で分化誘導させ、*in vitro* での小核試験の指標細胞として応用する方法を開発したので報告する。

試験に用いた骨髄細胞は、C57BL/10系マウスの大腿骨から牛胎仔血清 (FCS) を 20% 含むハンクス液で洗い出し、赤芽球除去用トリス緩衝液を用いて溶血させた後、FCS を 20% 含むイーグル MEM 培地に浮遊させた。この骨髄細胞の浮遊液に人尿由来の EPO を添加した後、5% CO<sub>2</sub> 37°C の条件下で 24 ないし 48 時間培養した。

その結果、EPO の添加により赤芽球の分化が誘導され、未添加の培養方法に比べ高率に多染性赤芽球が産生された。この EPO 分化誘導赤芽球を用いて、マイトイマイシン C に対する感受性を CHL/IU 細胞を用いる *in vitro* 染色体異常試験法と比較したところ、*in vitro* 小核試験は染色体異常試験に比べ高い感受性を示した。このことから EPO 分化誘導赤芽球を用いた *in vitro* 小核試験法は、細胞レベルでの小核形成の検討だけでなく、各種変異原物質のスクリーニングとしても有益な方法と考えられた。

P49 エリスロポエチン分化誘導赤芽球を用いたin vitro小核試験(2) — in vitro条件下におけるマウス系統差 —

○近藤 靖、仁藤 新治、小野 隆昭、有行 史男、岡庭 梓(田辺製薬・安全性研究所)

マウスを用いたin vivo小核試験では、いくつかの変異原物質に系統差および性差のあることが報告されている。我々が考案したin vitroの試験においても使用するマウスの系統により成績が異なる可能性も考えられる。そこで3系統のマウスを用いたin vitroおよびin vivo小核試験を行ない成績を比較した。

マウスは小核試験によく用いられるCrj:CD-1と遺伝的背景が明瞭なC57BL/10:Slc(B10)、および多くの変異原に感受性の高いといわれているms:Halの3系統を用いた。試験物質にはdirect mutagenであるmitomycin C(MMC)を用いた。in vitroの試験はそれぞれの系統から得た赤芽球を用いて行なった(詳細は(1)参照)。in vivoの試験はMMCを1回腹腔内投与後24時間に標本を作製した。

その結果、小核誘発頻度はin vitroではB10=CD-1>msの順となった。これに対し、in vivoではms>B10=CD-1の順となり、in vitroとin vivoで感受性は逆転した。なお、性差はin vitroおよびin vivoのいずれの試験にも認められなかった。現在その他いくつかの条件下でも実験を行なっており、それらの成績も合わせて報告したい。

細胞の性状を評価するためには、細胞の増殖能、細胞の形態、細胞の機能などを用いて評価する。細胞の増殖能を評価する方法としては、細胞の増殖能を測定する方法が最も一般的である。細胞の形態を評価する方法としては、細胞の形態を観察する方法が最も一般的である。

P50 BDF<sub>1</sub>マウスを用いた小核試験検出率に及ぼす加令と性差の影響

・二宮ルリ子 小泉直子 井上芳樹 塚本利之

(兵庫医科大学 公衆衛生学教室)

『目的』ヒトでの変異原物質暴露に対する評価を考慮するうえで、加令と性差の影響は極めて重要な問題と考えられる。前回の「第13回日本環境変異原学会」でクローズドコロニーのddY系マウスを用いた小核試験では、抗癌剤のmitomycin C(MMC)を投与した場合、60週令時に変異原性が他の週令より増強され、また、雄が雌より強く影響を受けることを発表した。今回、交雑群のBDF<sub>1</sub>を用い、染色体異常誘発機構の異なる3種の変異原物質について、変異原性誘発に及ぼす加令と性差の影響を検討した。

『方法』交雑群BDF<sub>1</sub>(C57BL/6×DBA/2)の8週令と60週令のマウスについて、control群、染色体切断剤のMMC 3mg/kg 1回投与群、MMC 1mg/kg 4回連続投与群、核酸代謝拮抗剤のcytosine arabinoside・HCL(ARAC) 25mg/kg 1回投与群、ARAC 12.5mg/kg 4回連続投与群、紡錘体阻害剤のvincristine(VCR) 0.125mg/kg 1回投与群、VCR 0.0625mg/kg 4回連続投与群を設定し、小核試験を行なった。各群動物数は10~11匹である。被験物質のMMC、ARACは生理食塩水に、VCRは付属の溶解液に溶解し、全て腹腔内投与した。顕微鏡の標本作成は、前回の方法と同じである。従来の固体に対する変異原性の強さとして『小核を有する赤血球の出現頻度』を、細胞に対する染色体異常の強さとして『2個以上の小核を有する赤血球の出現頻度』を観察した。

『結果』60週令までに死亡したマウスは、雄74匹中1匹、雌73匹中1匹であった。死亡した雌および60週令の雌1匹に腫瘍が存在した。60週令のマウスにおいてVCR 4回連続投与群の雄が、雌より有意に高い変異原性を示した。また、2個以上の小核を有する赤血球の出現頻度は、60週令の方が8週令より高い傾向がみられた。

P51 マウス週令と小核誘発

・手塚英夫(国立遺伝研)、玉井功一(保健科学研)、村上和生(三和化学生研)、賀田恒夫(国立遺伝研)

小核誘発に影響する因子として、これまでにマウスの系統差や性差、処理時間等の検討がなされてきているが、また週令との関連は詳細に検討されていない。我々は、この点に着目し、ddY雄マウスを用いて、自然および化学物質誘発の小核頻度の変化を1, 3, 6, 9, 13週令の各点で検討した。指標は、骨髓中の小核を有する多染性赤血球の頻度とした。

その結果、自然誘発の小核頻度は全時期を通じて0.2~0.3%と変わらなかった。これに対し、Mitomycin C 2mg/kg, 30h; MMS(Methylmethanesulfonate) 100mg/kg, 27h; Cytosine arabinoside 50mg/kg, 24hの各処理では、いずれも1週令で高値を示し、週令に従い有意な減少を認めた。全赤血球中の多染性赤血球の頻度は、自然および化学物質処理のいずれの場合とも、高値を示した1週令より、週令の増加に伴って有意な減少を認めた。

上記の事実は、動物の若令時ににおける造血系細胞の活性な増殖、ある種の修復欠損、あるいは活性な染色体組み換え機構の存在を示唆するものである。今後、さらに代謝や作用機構の異なる化学物質を用いての検討が必要であろう。

P52 マウス小核試験における系統差

○佐藤精一・西義介・乾直道(日本たばこ・生物実験センター)

マウス小核試験は変異原性を検索する簡単な試験法として開発され、以来広く実施されている。現在小核試験に用いられている動物種はほとんどマウスである。しかし、研究者によってその使用する系統は一致していない。また、系統間で小核出現頻度を比較した報告も少なく薬剤によっては系統間で成績が異なることは十分予想される。

本試験では近交系のマウス(C57BL/6, BALB/c, DBA/2)を用い、核酸塩基と核酸塩基アナログ(チミジン、ウリジン, ara-C, BudR, FudR, 6-MP)およびEMS, 4NQOをそれぞれ系統の異なるマウスに処理して、各系統間の小核出現頻度を比較検討した。

標本作成は薬剤処理30時間後にSchmidの方法に従って行ない、マウス1個体当たり1000個の多染性赤血球を数え、出現する小核を有する多染性赤血球数を計測した。

結果: BALB/cでは投与した薬剤すべてに对照と比較して有意に高く小核が出現した。一方、C57BL/6とDBA/2ではara-C, BudR, FudR, EMS, 4NQOで有意に高く出現したが、チミジン、ウリジン投与では有意な出現は認められなかった。また、系統間で小核の誘発を比較するとBALB/cは他の2系統より高い感受性を示した。

## P53

### 小核試験における系統差

小核試験共同研究グループ \* (JEMS, MMS 分科会)  
世話人代表 須藤鎮世 野村生物科学研究所

哺乳動物試験分科会 (MMS 分科会) の本グループは表記の課題について共同研究を行ったのでその結果を報告する。

マウス系統の選択は実用的観点から、小核試験に頻用されている *ddy* (静動協), *BDF<sub>1</sub>* (同), *CD-1* (日本チャールスリバー), ならびに変異原に高感受性を示すといわれる *ms* (*CD-1* 由来, 常陸動物医学) とした。検体は *colchicine*, *7,12-dimethylbenz(a)anthracene*, *ethyl methanesulfonate*, *N-ethyl-N-nitrosourea*, *K<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub>* および *6-mercaptopurine* とした。各参加機関は 3 系統, 1 群 4 匹の雄動物を用い, 1 検体につき低, 中, 高用量群の他, 險性対照群を設け, 小核試験を実施した。さらに, 各検体につき 4 機関, 各系統につき 3 機関で試験が行われるよう配慮した。その結果, 4 系統ともすべての検体に対し陽性反応を示したが, 小核出現頻度は概して *ddy* と *CD-1* とが同等で, *BDF<sub>1</sub>* はそれよりやや高く, *ms* は特に高用量群で明らかに高い傾向を示した。

\* 共同研究参加者 (\*\*: 世話人)

青儀匠 (大塚製薬), 浅野哲秀 (日東電工), 有賀文彦 (バイオリサーチ), 安藤信明 (ミドリ十字), 大内田昭信 (大鵬薬品), 大島稔彦 (山之内製薬), 小野隆昭 (田辺製薬), 岸 美智子 (神奈川衛研), 小島基義 (環境保健), 佐々木 有 (残農研), 佐藤忠夫 (中外製薬), 佐藤精一, 西 儀介 \*\* (日本たばこ), 渋谷 敬 \*\* (食薬センター), 島田弘康 \*\* (第一製薬), 鈴木 洋 (大正製薬), 須藤鎮世 \*\* (野村生研), 田村博信 (日本新薬), 津吉俊 (サンスター), 中嶋 圓 (安評センター), 蜂谷紀文 (秋田大), 林 真 \*\* (国立衛試), 一ツ町晋也 (武田薬品), 藤岡栄一 (富士フィルム), 森田 健 (新日本実業), 村田共治 (クミアイ化学)

## P54

### ENU のマウススポットテストにおける H-2 遺伝子座の関与

○小野 隆昭、近藤 靖、仁藤 新治、有行 史男、岡庭 梓 (田辺製薬・安全研)、土川 清 (遺伝研)

マウススポットテストに関する検討の一環として我々は、土川らによって開発された PW 雄マウスを使用し、*ethylnitrosourea* (ENU) をモデル変異原とした試験を行なっている。前報では雌動物として C57BL/10 (B10) およびその H-2 コンジェニック系である B10.A を用いて ENU の 50 mg/kg を投与した場合、両系統間で recessive spot (RS) と white mid ventral spot (WMVS) の出現率に差は見られないが、奇形の発現率に差が認められることを報告した (第14回本学会)。

今回は、この成績について用量-反応関係を見るため、ENU の 12.5, 25 および 50 mg/kg の 3 用量でスポットテストを行なった。また、奇形発現率の違いを検討するため、それぞれの系統の雌雄の交配から得られた妊娠 18 日の胎仔について外観ならびに骨格の奇形を調査した。さらに、B10 および B10.A 雄マウスを用いた小核試験を実施し、ENU によって誘起される染色体異常の系統差についても検討した。

スポットテストの結果、RS および WMVS の頻度には両系統とも直線的な用量-反応関係が見られた。しかし、どの用量においても B10 と B10.A で差は認められず、小核試験においても系統間の差は見られなかった。一方、奇形の発現率は B10.A が有意に高く、前報の成績とも一致した。

以上の結果から H-2 遺伝子座は ENU による奇形の発現に強く関与していることが確認された。しかし、スポットテストで検出される体細胞突然変異の発現もしくは染色体異常の誘発に対する関与については明確な結論は得られなかった。

## P55

### DNAクロスリンク剤による *umuC<sup>+</sup>* 遺伝子の誘発

大西武雄<sup>1</sup>・岩本サカエ<sup>2</sup>・野津敬一<sup>1</sup>  
(奈良医大・生物<sup>1</sup>、奈良衛研・予防衛生<sup>2</sup>)

マイトマイシン C (MMC)・ソラーレン (8MOP)・シスプラチニ (Cis-Pt) などの DNAクロスリンク剤による *umuC<sup>+</sup>* 遺伝子の誘発の違いを異なった DNA 修復能をもつ大腸菌において検討した。*lacZ<sup>+</sup>* 遺伝子を *umuC<sup>+</sup>* のオペレーター 遺伝子につないでいるプラスミドを利用したので *umuC<sup>+</sup>* 遺伝子の誘発の違いを  $\beta$ -ガラクトシダーゼ活性の測定により求めた。さらに異なる DNA 損傷をもたらす他の薬剤である 4NQO や MNNG, MMS などによる *umuC<sup>+</sup>* 遺伝子の誘発についても検討した。

それらの結果をまとめるとつきのようになった。

| strain                  | MMC | 8MOP | Cis-Pt | 4NQO | MNNG | MMS |
|-------------------------|-----|------|--------|------|------|-----|
| wild                    | +++ | +    | ++     | +    | +    | +   |
| <i>uvrA<sup>-</sup></i> | +   | +++  | +++    | ++++ | ++   | ++  |
| <i>lexA<sup>-</sup></i> | -   | -    | -      | -    | -    | -   |
| <i>recA<sup>-</sup></i> | -   | -    | -      | -    | -    | -   |

+ は *umuC<sup>+</sup>* 遺伝子の誘発の度合を示す。+ が多いのはよく誘発されることを示す。- は誘発されないことを示す。

以上の結果よりこれらの化学物質による *umuC<sup>+</sup>* 遺伝子誘発が *lexA<sup>-</sup>* や *recA<sup>-</sup>* で見られなかったので、従来の紫外線による突然変異誘発の一過程と考えられる SOS 誘発によく似ている。しかし MMC では除去修復欠損株である *uvrA<sup>-</sup>* における誘発よりも野生株における誘発のほうがより高く MMC 以外の薬剤や紫外線の場合と全く異なっている。したがって DNAクロスリンクといつてもその損傷の種類が異なると異なったしくみで *umuC<sup>+</sup>* 遺伝子の誘発や突然変異誘発に寄与するものと考えざるをえない。

## P56

ソラーレン感受性株である酵母菌の DNAクロスリンク剤に対する感受性

大西武雄<sup>1</sup>・○米田和子<sup>2</sup>・杉村佳洋子<sup>2</sup>・野津敬一<sup>1</sup>  
(奈良医大・生物<sup>1</sup>、薬剤部<sup>2</sup>)

ソラーレン感受性突然変異株 *psol*, *psol2* を用いて、DNA にクロスリンク損傷をもたらす、ソラーレン (8MOP)、シスプラチニ (Cis-Pt)、マイトマイシン C (MMC) への感受性を調べた。併せて他の異なった DNA 損傷をもたらす化合物についてもその感受性を検討した。

*psol*, *psol2* とも細胞の定常期・増殖期において、それぞれの化学物質に対して異なる感受性を示したので、各々について以下にまとめた。

1 定常期の酵母菌において、8MOP や Cis-Pt がもたらす DNAクロスリンク損傷に対する修復には *PSO1* 遺伝子の働きが特に重要であるが、MMC のみに対しては *PSO1* 遺伝子の必要性がなかった。また UV, 4NQO などの塩基損傷の修復にも *PSO1* 遺伝子の関与は大きい。しかし、MNNG や MMS などのアルキル化剤には何らの働きをもたない。一方 *PSO2* 遺伝子は、8MOP 損傷の修復に大きく働いている。また UV, 4NQO による損傷の修復にもいくぶん寄与する。

2 増殖期においては、*PSO1* の遺伝子は 8MOP による DNA 損傷の修復にすらも働かない。UV, 4NQO や Cis-Pt の損傷に対しては少しは働く。*PSO2* 遺伝子については 8MOP 損傷の修復にのみ大きく働く。

酵母菌における DNAクロスリンク損傷の修復機構はその損傷をもたらす化学物質の種類によって異なると考えてよい結果が得られた。また細胞の増殖・定常期によつても DNA 修復のしくみが異なると考えられる。

**P57** アルキル化剤によって誘発されるショウジョウバエ毛スポットの成因 <sup>○原巧・渋谷徹・加藤基恵・松田良枝</sup> 食品薬品安全センター・泰野研究所

ショウジョウバエ毛スポットテストは簡便で検出感度の高い *in vivo* の変異原性試験である。この試験では遺伝子突然変異、染色体欠失、染色体組換え、染色体不分離などの様々な遺伝的損傷を検出することができる。このことは遺伝毒性をもつ化学物質を数多く発見するためには有利であるが、検出されたスポットの成因を不明確なものにする。そこでアルキル化剤によって誘発されたスポットのうち原因が組換えによるものの割合を調べるために、組換え抑制個体と非抑制個体の比較を行なった。

マイクロショウジョウバエの多毛系統雄と炎毛系統雄を交配し、得られた  $F_1$  幼虫を産卵後 72 時間に種々の濃度の Ethyl methanesulfonate (EMS) および Methyl methanesulfonate (MMS) で処理した。羽化した  $F_1$  成虫には組換えが可能な正常体色個体と組み換えを抑制した黄体色個体がある。通常は前者の毛だけを観察するが本研究では両方の観察を行って比較した。

陰性対照群と EMS の各処理群では、細胞数が大きいスポットほど組換えによって生じたものの割合が高く、特に 33 個以上の細胞からなるスポットの大部分は組換えによるものと推定される。このことは組換えか他の遺伝的損傷よりも細胞の生存力に影響を与えることを示している。組換えによるスポットの全スポット中に占める割合は陰性対照群雄で約半分、同雌で約 9 割、EMS の各処理群では 4 から 7 割の範囲であった。

これらの結果と MMS に関する結果を合わせて考察する。

**P58**

線虫 *Caenorhabditis elegans* における染色体異常と劣性致死突然変異の誘発 <sup>玉井功一・定家義人・賀田恒夫</sup> (遺伝研)

*C. elegans* は体長 1 mm ほどの非寄生性線虫で、大腸菌を餌に寒天培地上或いは液体培地で飼うことが出来る。半透明のため光学顕微鏡による細胞分裂の観察が可能で、約 1000 個の体細胞の全細胞系統樹が知られている。雄雌同体が基本であるが X 染色体の不分離によって雄が 1/500 の頻度で生まれることや、世代が 3 日で、狭い空間で大量に飼えることから、遺伝解析には適している染色体地図も詳しく分かれている。遺伝学の材料としてはショウジョウバエと並ぶまでになっている。 *C. elegans* はこのほかにも神経や筋肉の形態学や遺伝解析が進んでいるので、環境中の毒物が多細胞動物個体にもたらす様々な効果と影響を研究するモデル動物としては適していると思われる。

我々はこれらの長所を持った *C. elegans* を突然変異生成機構の研究に用いることを目的として、生殖細胞における DNA 修復と突然変異誘発に関する実験を始めた。

(1) 初期胚における染色体異常の誘発

*C. elegans* 染色体の簡便な観察方法を開発しこれをガムマー線で誘発した染色体異常の検出に応用した。線量に依存して異常は増加するが、照射された成虫を 2 日培養すると急激に減少する。この減少は放射線感受性突然変異 *rad-1* では影響されないが *rad-2* では阻害された。更に *rad-2* ではふ化率が急速に回復した。従って野生株では *rad-2* に依存した染色体異常の修復がみられること、ホロセントリックな染色体を持つ *C. elegans* では染色体異常は致命的でないことが示唆された。

(2) 劣性致死突然変異の検出

Rosenbluth らによって解析された第 3 と第 5 染色体に相互転座 (*eT1*) を持つヘテロ個体は劣性致死突然変異の定量に適している。*eT1* とこの領域の *UncDpy* のヘテロ個体を変異原で処理すると、劣性致死突然変異を *eT1* でカバーされる領域にヘテロで持つ  $F_1$  個体は *DpyUnc* の  $F_2$  を生まない。この系を利用して  $H_2O_2$  の

変異原性を調べたところ  $0.2 \mu M$ 、1h 処理で明らかな変異原性が認められた。目下この系を利用して、各種変異原の検出を試みている。

**P59**

活性酸素発生系における染色体異常の誘発 <sup>IV.  $H_2O_2$  抵抗性細胞による検討 (その2)</sup>

沢田 稔、祖父尼俊雄、畠中みどり、石館 基  
(国立衛生試験所・変異原性部)

【目的】我々はチャイニーズ・ハムスター培養細胞 (CHL) における、活性酸素の染色体異常誘発作用について検討してきた。昨年の本学会では、 $H_2O_2$  を繰り返し処理することによって、カタラーゼ活性が増大し  $H_2O_2$  に対する抵抗性の高まった細胞が得られたことを報告した。今回、 glucose oxidase (GO), menadione (MN), adriamycin (AD), bleomycin (BL), soft X-ray など、活性酸素产生系や、細胞毒性の発現に活性酸素の関連が推定されている系について  $H_2O_2$  抵抗性細胞を用いて染色体異常誘発性を検討した。

【結果及び考察】 GO については、3 時間処理によって元の CHL 細胞では 0.02 unit/ml の濃度で 50 % 以上の細胞に異常が観察されるのに対し、 $H_2O_2$  抵抗性細胞では約 10 倍の濃度で同程度の異常が出現した。また培養液中へのカタラーゼの添加によっても異常の出現は完全に抑制された。この結果は、GO が培養液中で  $O_2$  を 2 電子還元して  $H_2O_2$  を生成することとよく一致する。

MN, AD, BL では、いずれも低濃度で高頻度の異常が誘発されたが、両細胞間での差は見られなかった。従って、これらの場合には  $H_2O_2$  の関与はないと考えられ、他の活性酸素種の関与についてはさらに検討が必要であろう。

Soft X-ray (Softex, CMB-2) では両細胞での差は観察されなかったが、cysteamine の添加によって異常細胞の出現率が著しく減少することから hydroxyl radical の関与が示唆された。 Superoxide radical についても検討中である。

**P60**

Erythropoiesis からみた小核試験  
(その1) Mitomycin C 投与後のマウス骨髓中赤血球数の変化について  
○永江祐輔 (日本チバガイギー)

鈴木勇司、清水英佑 (慈恵医大・公衛)

小核試験において、変異原性物質を投与した際に多染性赤血球/P/N 比の低下がみられることがある。しかし、この比の低下についての詳細な説明は未だなされていない。今回、我々は密度勾配法を用いて大腿骨骨髓中の赤血球数 (絶対値) を計数することによって、染色体異常誘発物質 (Mitomycin C, 2.6 および 5.2 mg/kg) 投与後の Erythropoietic cells の変動を検討し、以下の知見を得た。なお、動物は雄性 ddY マウスを用いた。

A. P/N 比は投与 72 時間後まで徐々に低下し続けた。しかし、総赤血球数および総正染性赤血球 (NCE) 数は投与 3 時間後から徐々に増加し、48 時間後をピークに以後は徐々に減少した。また、総多染性赤血球 (PCE) 数も 3 時間後から徐々に増加し、24 時間後をピークに以後は減少した。PCE はその後、投与 72 時間後では逆にほとんど骨髓中に認められなかった。

B. 投与 24 時間後に前赤芽球から好塩基性赤芽球大の PCE が、また、48 時間後にはほぼ同様の大きさの NCE が各々増加し、正常の分化の過程を経ずして赤芽球が脱核したことが示唆された。

C. 有小核 PCE 率は投与 10 時間後から増加し始め、24 時間後をピークに以後は減少した。一方、有小核 NCE 率は 24 時間後から増加し始め、48 時間後にピークを示した。このことから、多くの PCE は骨髓中にとどまつたままで、24 時間経過後 NCE に変化することが推察された。

以上の所見より、Mitomycin C 投与により一過性に赤芽球の脱核が亢進し、これら脱核後の赤芽球は骨髓から末梢血への流出を何らかの形で阻害されて骨髓中に一定期間停滞されると推察され、このような Erythropoiesis の変化が P/N 比の変化をもたらすことが可能性として示唆された。

## P61 Erythropoiesis から見た小核試験

(その2) エリスロポエチンの小核誘発能に与える影響  
○鈴木勇司、清水英佑 (慈恵医大・公衛)  
永江祐輔 (日本チバガイギー)

小核試験において、赤芽球系細胞の分化・増殖が盛んであるほど、変異原性物質のヒットする機会が増大し小核誘発頻度が高くなると考えられる。そこで、BALB/cマウスに分化増殖因子であるエリスロポエチン(EPO-301:TOYOB0, この製品はburst promoting activityも有する)を皮下投与した後、変異原性物質として1,1-dimethylhydrazine (DMH, 単独投与では小核誘発は認められない)を腹腔内投与して、その小核誘発頻度および多染性赤血球/正染色赤血球 (P/N) 比の変化をしらべた。

A. Time study: EPO-301を 3U/mouse投与後24時間目にDMH (20 mg/kg)を投与して、さらに30時間後に骨髄細胞を得たときに、EPO-301 単独投与群と比較して有意に小核誘発亢進が認められると共に小核誘発のピークを示した。

B. Dose response: Time studyにより最も強く小核誘発が認められたprotocolに従って、EPO-301の投与量を 6, 3, 1, 0.2 U/mouseとしたところ、EPO-301 の投与量と小核誘発頻度との間に量-反応関係が認められた。

C. Variation: EPO-301により、DMH以外にbenzo(a)pyrene,  $\beta$ -naphthylamine, mitomycin C 等に小核誘発頻度の亢進が認められた。

D. CoCl<sub>2</sub>による erythropoiesis 誘導増強: EPO-301のかわりに、EPO を宿主に誘導させることが知られているCoCl<sub>2</sub>を用いて実験を行ったところ EPO-301とほぼ同様の結果が得られた。

P/N 比は、各実験ともに erythropoiesis の変化と一致した所見を得た。

以上の知見より、erythropoiesis の変化は小核試験の結果に強い影響をもたらすことが明らかとなった。

## P62 MNUによる雄マウス生殖細胞のDNA

修復: 井上雅雄、栗原孝行、宮越聰(金沢医大)、  
近藤宗平(近畿大)

雄マウスにメチルニトロソウレア(MNU)を処理すると、処理時Spermatogonia BあるいはPreleptotene期のGerm cell由来の配偶子がF<sub>1</sub>に突然変異を高率に誘発することが知られている(Russell, 1982)。そこで、MNU腹腔投与後雄マウス精子形成過程におけるDNA修復能を不定期DNA合成(UDS)、精子の残存損傷(精子のメチル化)およびGerm cell DNAの塩基損傷などによって検索した。

UDSはSpermatogonia AからSpermatidにかけてのGerm cellに誘発され、Spermatozoa or/spermには誘発されなかった。UDSを誘起する細胞群の中で最もUDSの低いGerm cellのstageはPreleptotene期であった。

<sup>3</sup>H-MNU処理後の精子のメチル化は投与後35日目に補集された精子に最大値を示した。この結果は、MNU投与時Preleptotene期に相当するGerm cellが最も多くメチル化を受け、分化後精子になってもこの損傷(メチル化)が残存していることを示す。さらに、液体クロマトグラフィーを用いて同時に検出した生殖細胞全体のDNAのメチル化塩基は、肝細胞に比べ特にO<sup>6</sup>-メチルグアニンの修復能が低かった。

これらの結果から、MNUで誘発される劣性可視突然変異の要因を考察したい。

## P63 柴胡エキス中の変異原性増強作用物質に関する研究

○新川美紀 坂井至道\* 小瀬洋喜 佐藤孝彦  
永瀬久光 鬼頭英明 佐藤元泰 水野瑞夫  
(岐阜薬科大学 \*岐阜県衛生研究所)

(目的) 漢君らは、漢方処方に使用されている生薬エキスの、変異原に対する作用をスクリーニングした結果、柴胡エキスに変異原性増強作用を認めた。そこで本報では、柴胡の変異原性増強因子を分離同定するため検討を行った。

(方法) 柴胡エキスは、原末100gを1lの熱水で2回抽出し、温時吸引3回(東洋NO.2)後、ろ液を減圧濃縮し、リン酸緩衝液(pH 7.4)に溶解し、試料溶液とした。変異原性増強作用の検討には、Salmonella typhimurium TA98、TA100を用いるpreincubation法によってを行い、突然変異誘導物質として、Trp-P-1、Trp-P-2、Benzo(a)pyreneを用いた。

(結果) 柴胡熱湯抽出エキスは、Trp-P-1、Trp-P-2、Benzo(a)pyreneとの共存下で、いずれも変異原性増強作用が認められた。柴胡の原産地による差をTrp-P-1に対して試験した結果、天津柴胡、小柴胡、韓国産柴胡、熊本県特殊農産物協会産柴胡のいずれにも増強作用が認められた。増強因子単離のため、ether層及びm-BuOH層にTrp-P-1に対する増強作用が認められた。増強因子の分離同定については現在検討中である。

## P64 エノキタケ中の抗変異原性成分

○植島基雄<sup>1</sup>、木内武美<sup>1</sup>、小川正<sup>2</sup>、大西克成<sup>1</sup>  
(徳島大・医・細菌<sup>1</sup>、同食品<sup>2</sup>)

食品中の変異原物質の変異原性を、食品成分で抑制する目的で、キノコ中の抗変異原物質の検索を行なっている。今回は、エノキタケ(*Flammulina velutipes*)中の抗変異原性を有する物質について調べたので報告する。

キノコの子実体を75%エタノール中でホモナイズし、遠心上清画分は、エタノールを溜去した後、ジエチルエーテル溶性の中性、酸性、塩基性画分および水溶性画分に分画した。遠心残渣は、水に懸濁後、ジエチルエーテルを加え、エーテル溶性画分、水溶性画分、残渣画分に分画した。抗変異原性は、分画検体と食品中の変異原(IQ, MeIQ, MeIQx)とを37°C, 30分保温した後、*Salmonella*菌TA98株を加え、S9mixとpreincubationして測定した。上記7画分の中では、抗変異原性は、エーテル溶性酸性画分が最も強く、生キノコ2g分相当で、IQ, 8ng/plate, MeIQ, 4ng/plate, MeIQx, 10ng/plateの変異原性をそれぞれ84, 67, 65%抑制した。エーテル溶性酸性画分は逆相TLCを用い、95%メタノールで展開して分離したところ、Rf 0.35 ~ 0.47 およびRf 0.72 ~ 0.84画分に抗変異原活性を認め、生キノコ2g分相当で、IQ, 5ng/plateの変異原性をそれぞれ100, 83%阻害した。Rf 0.35 ~ 0.47画分に含まれる物質としてGC/MSによってリノレン酸、リノール酸、パルミトレイ酸、パルミチン酸、ミリスチン酸を同定した。これらのうち含量の多いリノレン酸、リノール酸に強い抗変異原活性を認めた。Rf 0.72 ~ 0.84画分に含まれる物質を逆相HPLCで分画して、9本のピークを得た。これら9画分のうち保持時間5.13, 6.17, 10.15分の画分に抗変異原活性があり生キノコ25g分相当で、IQ, 5ng/plateの変異原性をそれぞれ72, 89, 76%抑制した。保持時間10.15分の物質を<sup>1</sup>H-NMR, FAB-MS, UVスペクトルで分析した結果、乳酸誘導体と推定した。

P65 お茶類およびその成分による Aflatoxin B<sub>1</sub> 誘発染色体異常の抑制について：  
大西淑江<sup>1</sup>、藤江喜美子<sup>1</sup>、伊藤義明<sup>2</sup>、  
(大阪女子大学基礎理学科<sup>1</sup>、神戸市環保研<sup>2</sup>)

我々は、化学発癌剤によって誘発されるラット骨髄細胞における染色体異常の抑制に関する研究を、以前から行っている。一方、コーヒー、紅茶、緑茶に含まれているカフェイン、エラグ酸、タンニン酸、アスコルビン酸などには抗変異原性があると言われている。また、カフェインについては発癌性及び変異原性を増強する効果があるという報告もある。そこで、上記実験系を用いてお茶類(コーヒー、紅茶、緑茶)及びその成分に発癌抑制または増強効果があるかどうかについて調べたので報告する。

実験は生後4週のWistarラット雄を各群6匹ずつ用いた。お茶類の成分についてはAflatoxin B<sub>1</sub>(Af-B<sub>1</sub>)投与2時間前に経口投与し、Af-B<sub>1</sub>(1.0 mg/Kg)を腹腔内投与し、18時間後の骨髄細胞の染色体標本を作り、顕微鏡下で観察した。お茶類についてはお茶類を飲み水の代わりに1週間ラットに与えた後、同様の操作をした。

Af-B<sub>1</sub>によって誘発される染色体異常は、カフェイン、エラグ酸、紅茶を前投与することによって統計的に有意に抑制され、特にカフェインでは著しい抑制が認められた。その抑制率は異常をもつ細胞の割合から計算すると、それぞれ4.7, 3.7, 2.8%であり、細胞当たりの異常の数から求めると6.1, 4.6, 4.8%の抑制率が認められた。しかし、その他のお茶類及びその成分では抑制も増強も認められなかった。

また、お茶類の成分をAf-B<sub>1</sub>投与24時間前に投与した結果もあわせて報告する。

P66 生薬の抗突然変異性  
(II)メカニズムとDNA修復促進  
○三枝 新<sup>1)</sup>、大塚淳宏<sup>2)</sup>、布柴達男<sup>1)</sup>、  
曾谷知弘<sup>1)</sup>、西岡 一<sup>1)</sup> (1)同志社大、  
生化研、(2)ハウス食品(株)

環境変異原の危険度の評価やこれからの防御の検討は重要であると考えられる。我々はこれまでに、ヒトだ液、血液やその成分などによる変異原/発ガン物質の不活性に関して報告してきた<sup>(1)(2)</sup>。また、前年度の本学会において、現在使用されている生薬抽出物70種について、(i)4NQOの変異原性を不活性するもの(Inactivation)、(ii)UV、4NQOによって誘発される突然変異を抑制するもの(Inhibition)を、サルモネラ菌TA100、大腸菌WP2uvrA/pKM101のreverse mutationを指標としてスクリーニングを行い、その結果を報告した。

これによると、(i)Inactivation(不活性率50-100%)としては、*Calendula officinalis* L. (トウキンセンカ) *Chin. wulung* (ウーロン)、*Tussilago farfara* L. (フキタンボボ) などが、(ii)Inhibition(抑制率50-100%)としては、*Achillea millefolium* L. (セイヨウノコギリソウ)、*Betula alba* L. (バーチ)、*Gentiana lutea* L. (ゲンチアナ)、*Matricaria chamomilla* L. (カミツレ) などが陽性を示すと判定された。

今回は、生薬の(ii)Inhibition効果のメカニズムを明らかにするため、UV、4NQO以外の変異原、AF-2、MMS、EMS、MNNG、ENNG、Trp-P-1、Trp-P-2などのMutagenesisへの抑制能(Inhibitory capacity) および大腸菌DNA修復変異株であるWP2uvrA(*uvrA*)、CM571(*recA*)のUV survivalへの効果について検討を加えた。

その結果、これらの生薬抽出物は、今回使用された各変異原のmutagenesisについても50%程度の抑制能を示した。また、DNA修復変異株のUV survivalへの効果の検討により、そのメカニズムが推定された。これらinhibitionにおける有効因子としてのinhibitorについても現在検討中である。

- (1) Nishioka et al., Mutation Res., 85, 323-333 (1981).  
(2) Nunoshiba et al., Sci. Eng. Rev. Doshisha Univ., 27, 1-9 (1986).

P67 抗酸化剤の抗突然変異性  
○曾谷 知弘、東口 浩子、三枝 新、  
布柴 達男、西岡 一 (同志社大 生化研)

$\beta$ -カロチン、アスコルビン酸、 $\alpha$ -トコフェロール、BHA、BHTなどの抗酸化作用物質が、ベンツ(a)ピレンなどある種の化学物質の変異原性を減少させることが報告されている。

そのメカニズムは、(1)変異原に直接あるいは間接的に作用し、何らかの化学的、物理的な反応を行うことによって、その変異原性を不活性するもの(inactivation)と考えられている。

一方、(2)DNA損傷を受けた細胞(damaged cell)が突然変異の表現型に至る過程を阻害して、抗突然変異性を示すメカニズム(inhibition)も存在すると考えられている。

今回は、(2)inhibitionについて、UV、AF-2およびMNNGによって誘導される突然変異の生成過程に対して抗酸化作用物質がどのように作用するかについて検討し、その結果を報告する。実験は、(a)抗酸化剤を各変異原で処理された大腸菌WP2uvrA/pKM101株とともにSEM agar plateに重層し、2日間培養後、Trp<sup>+</sup>復帰変異コロニー数を比較する方法、(b)UV照射されたサルモネラ菌TA1535/pSK1002株を抗酸化剤存在下で培養した後、誘導される $\beta$ -galactosidase活性(Umuタンパク量)を比較する方法が用いられた。

この結果、 $\beta$ -カロチンなどの抗酸化作用物質に(2)inhibitionによる抗突然変異性が認められるものが観察された。これらの作用機構を明らかにするために、抗突然変異性を示した抗酸化剤の大腸菌のDNA修復に対する影響を調べた。これらの結果から、抗酸化剤の抗突然変異性のメカニズムを検討した。

P68 アラニンーグルコース Maillard 反応物の助および抗変異原性  
○曾 荣植 (大阪市大・医・公衛)  
黒田孝一 (大阪市環科研)

アミノ酸一糖の Maillard 反応物は化学的に活性な物質が含まれ、変異原性を持つ場合もまた抗変異原性を持つ場合もある。我々はアラニンーグルコースの Maillard 反応物(以下AGMと略す)に助および抗変異原性を見いだした。

#### 材料と方法

1. 変異原に対する効果：前培養したE. coli WP2 uvra(*trp-*)、変異原およびAGMにリン酸緩衝液を加え、37°C、20分のインキュベーション後に最少グルコース培地にoverlayし、2日間培養後 revertants を測定した。
2. AGM の調製：アラニンとグルコースの1M水溶液を沸騰水内で10時間加温した。

#### 結果

1. AGM は 400  $\mu$ l/plate まで変異原性および毒性はみられなかった。
2. AF-2に対する影響：0.01から 10  $\mu$ l/plate までAGM 投与量の対数値に比例して、AF-2(0.01  $\mu$ g/plate)の変異原性を強め、AGM 10  $\mu$ l/plate では対照の約2.5倍になった。また、AGM の助変異原性効果はAF-2量を変えても一定であった。
3. MNNGに対する影響：AGM 12.5-100  $\mu$ l/plate の投与範囲で変異原性を抑制した。AGM 100  $\mu$ l/plate の投与ではMNNG 10  $\mu$ gの変異原性を80%以下に抑制した。この助変異原活性は他の数種のアミノ酸ーグルコース反応物(リジン、アルギニン、アスパラギン酸、グルタミン酸)に、抗変異原活性はリジン、アルギニンにおいても確認された。

**P69** 食品中のSOS反応抑制成分について  
○尾花裕孝、中村清一、田中涼一  
(大阪府立公衆衛生研究所)

近年変異原物質の検出法が確立されたことから、環境中の変異原物質の検出が精力的に行われ、変異原物質が食品、大気などわれわれの身の回りに存在することが明らかにされている。しかし一方、変異原物質を不活性化する物質や、突然変異誘発機構に作用し突然変異の誘発を抑制する物質が存在することも明らかにされている。そこで演者らは抗変異原物質の検出を目的として、食品中に含まれるSOS反応の抑制物質の検索をumuテストにより行った。

【方法】 143種の食品が系統的に13群に分類されたTotal Diet Studyの試料を各群ごとにホモジナイズした後、遠心操作により澄明な上清を得、これを検索用抽出液とした。SOS反応の検出系としてumuテストを用い、UV、AF-2、活性型Trp-P-1により誘発されたSOS反応に対する先の抽出液の抑制作用を検討した。

【結果】 果実、野菜を含む群は活性型Trp-P-1により誘発されたSOS反応を強く抑制したが、UVによるSOS反応は抑制しなかった。一方調味、嗜好飲料の群はUVのみならず活性型Trp-P-1やAF-2によるSOS反応も抑制した。そこでこの群に含まれるどの食品がSOS反応に対し抑制作用を持つか検討したところ、コーヒーがSOS反応に対し強い抑制作用を持つことがわかった。コーヒーのSOS反応抑制作用についてさらに検討を加えたところ、この抑制作用はカフェインレスコーヒーにおいても見られることからSOS反応抑制因子はカフェイン以外の物質であり、またその物質はビスキングチューブの透析膜を通過し、その分子量はさほど大きくないことが推察された。

**P70** 代謝活性化を必要としないニトロソ化合物の変異原活性に及ぼすカルボン酸の影響  
○武田啓、平野真理、望月正隆 共立薬大

変異原活性を抑制する因子を見出すことは、発癌予防を考える上でも重要である。ニトロソジアルキルアミンの変異原性発現をカルボン酸が抑制することは、活性化代謝の抑制と関連して既に早津らが報告した。そこで、代謝活性化を必要としないニトロソ化合物の変異原性発現におよぼすカルボン酸の影響を検討した。

ニトロソ化合物として、 $\alpha$ -ヒドロキシニトロサミン、 $\alpha$ -ヒドロペルオキシニトロサミン、ニトロソアルキル尿素および $\alpha$ -アセトキシニトロサミンを用いた。突然変異原性はサルモネラTA 1535、サルモネラTA 1950および大腸菌WP 2 h c r-に対する活性を指標とした。

カルボン酸による活性の抑制は、カルボン酸の濃度に依存した。さらに抑制の度合いは化合物の種類で異なり、直鎖のカルボン酸においては、炭素数の長さに比例して強く現われた。またこの抑制は $\alpha$ -ヒドロキシニトロサミンおよびニトロソアルキル尿素など極性の高い化合物に強く、 $\alpha$ -ヒドロペルオキシニトロサミンに弱く、 $\alpha$ -アセトキシニトロサミンではさらに弱く、これらの変異原化合物の分配係数とよく相関した。また変異原のアルキル基の違いにも相関し、メチル基に強く、エチル、プロピルからブチル基と順に弱くなった。変異原のアルキル基の違いにも相関した。一方、変異原化合物の水溶液中での分解速度は、リン酸緩衝液と酢酸緩衝液で差が見られなかった。生菌数についても、酢酸緩衝液中では減少がみられなかった。

**P71** Interplasmidic Recombinationに対する抗突然変異因子の作用  
太田敏博、○渡辺三恵、白須泰彦(残留農薬研)、  
井上 正、賀田恒夫(国立遺伝研)

目的:  $\alpha$ 、 $\beta$ -不飽和カルボニル構造をもつ抗突然変異因子として知られている桂皮アルデヒドやバニリンなどは、その突然変異抑制の作用機構としてDNAの組換修復系の活性化を考えられている(Ohta et al., 1983)。そこで、大腸菌における組換反応を測定する方法として、2種のプラスミド間での組換反応を定量できる系の開発を行った。

方法および結果: 不和合性グループの異なる2種のプラスミドpBR322 ( $Tc^R$ ,  $Ap^R$ , 2.6Md.) とpACYC184 ( $Tc^R$ ,  $Cm^R$ , 2.65Md.) を材料として用いた。各々のプラスミドのテトラサイクリン耐性遺伝子上にある制限酵素  $Sall$ ,  $SphI$ ,  $BamH$ I,  $Hind$ III切断部位に以下の方法で突然変異を導入した。制限酵素で切断後、T4 DNAポリメラーゼによって両側の付着端を修復合成し、次いでDNAリガーゼによって環状分子に変換して4塩基対の挿入を行った。なお、 $SphI$ による切断では3'末端が突き出た線状分子になるので、T4 DNAポリメラーゼの3'→5'エキソヌクレアーゼ活性により両端の一本鎖部分を除いた後、DNAリガーゼで連結して4塩基対の欠失を導入した。別々の部位に変異を導入した2種の $Tc^R$ のプラスミドを大腸菌に入れ、細胞内での組換反応によって生じた $Tc^R$ 組換体の出現頻度を測定した。この系を利用して抗突然変異因子の効果を検討する。

Ohta et al., Molec. Gen. Genet., 192: 309-315 (1983)

**P72** アセトアミノフェンの変異原増強作用  
—DNA修復修飾作用について  
○佐々木美枝子 金西信次  
東京都衛生研究所 毒性部

鎮痛解熱剤アセトアミノフェンにはそれ自体、チャイニーズハムター、ラット、マウスに対して染色体異常誘発作用があり、また培養細胞株CHO-K1細胞に対しても長時間作用させると染色体異常を誘発し、また、既知変異原MNNGおよび紫外線の変異原作用を増強させる活性のあることを報告してきた。アセトアミノフェンのこの活性の作用機序を明らかにするため、その生物活性について検討を行っているが、この物質のDNAに対する作用を検索したところ、アセトアミノフェンにはDNA修復を阻害する作用のあることがラット肝臓細胞初代培養系における不定期DNA合成の検出によって示された。ラット肝初代培養細胞を化学物質で処理したのち、トリチウムチミジンでDNAをラベルすることによりDNAに生じた障害を修復する不定期DNA合成(UDS)をオートラジオグラフィーで検出することができる。アセトアミノフェンはそれ自体UDSを促進あるいは阻害することはなかったが既知の強力な変異原物質MNNGによって生じたUDSがアセトアミノフェンによって妨げられた。CHO-K1細胞を用いて行ったアルカリエリューションによるDNA鎖切断の検出では、アセトアミノフェンにはDNAに対する直接の作用は認められなかった。

これらの実験結果からアセトアミノフェンによる変異原活性増強作用は、変異原物質によって生じたDNA損傷にたいする修復機構をこの物質が抑制するためであろうと推察される。

## P73

### 培養細胞に対する化学変異原の複合効果 III

MMSとEMS処理の時間差による影響

○小島 肇、小西宏明

(日本メナード化粧品(株)生化学研究所)

黒田行昭

(国立遺伝学研究所 個体遺伝系形質遺伝部)

昨年の本大会において、哺乳動物培養細胞を用いた変異原物質の複合効果として、アルキル化剤であるメチル・メタンスルフォネート(MMS)とエチル・メタンスルフォネート(EMS)の同時処理の影響について報告した。

今回、さらにMMSとEMSの複合効果を詳しく調べるために、両物質を3時間ずつ連続処理したり、処理間に3時間の正常培養液による無処理時間をおくなどの時間差による影響について検討した。

細胞株としては、チャイニーズ・ハムスターV79細胞を用い、細胞生存率や6-チオグアニン(6-TG)抵抗性突然変異誘発頻度に対する影響を調べた。

この結果、細胞生存率試験では両物質の処理順序と回復時間の影響が大きかった。特に、MMS処理においてEMS LD<sub>50</sub>濃度で後処理した場合、前処理と比べると、生存率の減少が大きかった。また、ほとんどの場合において、同時処理よりも連続処理の方が生存率は低く、3時間の無処理時間をおくことによって生存率は上昇した。

突然変異誘発頻度においては、両物質をそれぞれ単独で処理した場合の誘発頻度を加算した値を示した。同時処理よりも連続処理の方が誘発頻度は高かったが、処理順序の影響はほとんどなかった。また、無処理時間をおくことによって誘発頻度は減少傾向を示した。

## P74

FM3A細胞を用いた、N-Methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG)による誘発突然変異に対する塩化コバルトの抑制効果

○森田恭信、水谷正寛

(財)食品薬品安全センター 秦野研究所

突然変異を抑制する因子のうち、一旦変異原に暴露した細胞に作用して、その誘発突然変異頻度を下げる働きを有する抗突然変異因子(Bio-antimutagen)は、近年、動植物体あるいは食品類のなかから、微生物系を用いて数多く検出されている。これら微生物系を用いて検索された因子の中で、哺乳動物系で有効性を示すものの存在については、現在検討が進められている。

塩化コバルトは、大腸菌およびサルモネラ菌において、紫外線、ガンマ線、MNUなどによる突然変異誘発を抑制し、非常に広いスペクトルを有する突然変異因子であり、その作用機構について、組換修復を促進しこうとしたところが知見が得られている(Kiuchi et al., 1984)。

今回、哺乳動物にうける、塩化コバルトの抗突然変異因子あるいは、抗確奇形因子としての有効性を検討する目的で、前段階実験として、哺乳動物細胞(FM3A(F28-7))を用いて、MNNGによる誘発突然変異に対する塩化コバルトの抑制効果について検討した。その結果、6-thioguanine耐性およびOxabain耐性変異を指標とした場合、軽度の抑制効果が認められた。

突然変異誘発頻度においては、両物質をそれぞれ単独で処理した場合の誘発頻度を加算した値を示した。同時処理よりも連続処理の方が誘発頻度は高かったが、処理順序の影響はほとんどなかった。また、無処理時間をおくことによって誘発頻度は減少傾向を示した。

## P75

抗癌抗生物質がヒトリンパ球に誘発する染色体異常とSCEに対するSODの抑制効果

○津田昌一郎、今西仁、三沢信一、阿部達生、瀧野辰郎(京都府立医大・三内)

Neocarzinostatin(NCS)やadriamycin(ADR)をはじめとする抗癌抗生物質は、種々のfree radicalである活性酸素の産生を介してDNAやRNAに作用し、抗腫瘍効果を発現すると言われている。これまで我々はNCSがヒト末梢リンパ球に多大なる染色体異常を誘発すること、ADRがin vitro及びin vivoで高いSCEを誘発することを報告してきた。今回、抗酸化酵素であるSuper oxide dismutase(SOD)の、NCSによる染色体異常誘発に及ぼす影響とADRによるSCE誘発に与える影響を検討した。(材料・方法)ヒト末梢リンパ球を15%FCS加 RPMI1640培地で37℃で培養した。NCS(終濃度10<sup>-7</sup>M)、ADR(10<sup>-7</sup>M)、および種々の濃度のSOD(2×10<sup>-2</sup>、10<sup>-2</sup>、10<sup>-1</sup>U/ml)を培養開始時に、BrdU(5μg/ml)を培養開始後24時間目に作用させた。1-a) NCS単独、1-b) NCSとSODの同時処理、2-a) ADR単独、2-b) ADRとSODの同時処理について検討した。染色体標本は48及び72時間後に通常の方法で作製し、Giemsa染色、G band、TIG染色を施行した。それぞれにつき分裂指数(MI)を求め、核型及びSCEを分析した。(結果)1-a) MIは1.6、SCEは7.12/46染色体である。2-a) MIは2.8/30(93.3%)、fragment(fr)が24/50(96.7%)みられ、細胞一ケ当たりのSCE及びfrはそれぞれ平均1.7個、2.93個であった。1-b) MIは1.2~1.4。SODとの同時処理ではSCE、frの出現率は低下していた(2×10<sup>-1</sup>U/ml:SCE 1.6% (53.8%) 0.58個/cell (P<0.01), fr 1.7% (65.4%) 1.0個/cell (P<0.01))。2-a) MIは0.67、(Sb(Sg)がごく少數の核型にみられた。SCE頻度は18.53±5.20、2-b) MIは1.9~2.1で2-a)に比し上昇していた。SCE頻度はSODの同時処理で低下した(2×10<sup>-1</sup>U/ml:13.8±4.17)。(まとめ)SODは抗癌抗生物質による染色体異常誘発及びSCE誘発を抑制することが示唆された。

## P76

マイトマイシンCにより誘発されるSCEおよび染色体異常に対するバニリンの影響

○佐々木有、今西久子、太田敏博、白須泰彦(残留農薬研)、賀田恒夫(国立遺伝研)

目的: バニリンはDNA組換修復作用を活性化することによって突然変異抑制作用を示すことが報告されている(Ohta, et al. 1986)。しかし、この作用は微生物においてしか知られていない。そこで、今回、我々は哺乳動物培養細胞におけるバニリンの作用をSCEと染色体異常を指標として検索したので報告する。

方法: チャイニーズハムスター卵巣由来細胞株CHO K-1をMMCで22時間処理した後、バニリンで22時間ないし44時間処理した。染色体標本を作製し、SCEと染色体異常の分析を行った。

結果: MMCで処理した細胞をバニリン存在下で培養することによりSCE頻度が増加した。一方、染色体異常頻度は切断型の異常を中心として減少した。なお、バニリンだけではSCEおよび染色体異常を誘発しなかった。この結果は、バニリンのDNA組換修復作用を活性化する作用が哺乳動物由来細胞においても働いていることを示唆するものであった。

Ohta et al., Food Chem. Toxicol., 24, 51-54, (1986)

○岡崎 秀 河合康雄

(株)アドバンス医科学研究所

日本人のガンによる死亡率は1980年以来、成人病による死亡率のなかで第一位を占め、抗ガン剤がいろいろ開発されているにもかかわらず今日も増え続けている。これは、これら抗ガン剤がまだ有効性に乏しいためであり、しかも副作用が心配されている。そこで、より有効な抗ガン剤が希求されている。日本人の罹患するガンでは消化器ガンが最も多い。このガンの発生に大いに関与していると考えられるのがニトロソ化合物である。ニトロソ化合物は胃内酸性条件下で、食物由來の亜硝酸塩とアミンから容易に合成される。その代表がジメチルニトロサミン(DMNA)であり、発ガン力が強く、ラットの実験では肝をはじめ胃、腎、消化管に発ガンが認められている。このように、我々の体内では毎日、多量のDMNAをはじめとするニトロソ化合物が生じている。しかし、その発生量から起これうる程の発ガンは起こっていない。このニトロソ化合物による発ガンを抑制している因子の一つとして、演者らは、消化管内に常在している腸内細菌のなかにニトロソ化合物を不活性化する細菌が存在するのではないかと考えた。そこで、健康な成人および幼児の糞便から乳酸菌(*Bifidobacteria*、*Enterococci*、*Streptococci*、*Lactobacilli*)を分離し、その熱水処理菌体のDMNA不活性効果を検討した。その結果約7,000菌株から、*B. adolescentis*、*B. breve*、*E. faecium*などのDMNA不活性化菌を見出したので、その有効性、有効成分ならびに作用機作について報告する。

## 索引・謝辞

# 人名索引

|                  |                    |                       |
|------------------|--------------------|-----------------------|
| <b>A</b>         | 後藤 由香              | P31                   |
|                  | 後藤由美子              | 2                     |
| 阿部 達生            | P75                |                       |
| 安藤 正典            | P2, P53            |                       |
| 青儀 巧             | P15, P53           |                       |
| 青野 裕美            | 2                  |                       |
| 有元佐賀恵            | 20, P27, P53       |                       |
| 有行 史男            | P48, P49, P54      |                       |
| 浅野 哲秀            | P53                |                       |
| 麻野間正晴            | P25                |                       |
|                  | M. C. Harnois      | P39                   |
| <b>B</b>         | 橋本 祐一              | 25                    |
| Bruce, W. R.     | 11                 |                       |
|                  | 畠中みどり              | P59                   |
|                  | 林 和夫               | P44                   |
| <b>E</b>         | 林 真                | 受賞講演, S3, P39, P53    |
| 恵比根 豊            | P45, P47           |                       |
| 遠藤 治             | P19, P22, P41      |                       |
| 遠藤 立一            | 6                  |                       |
|                  | 早津 聰子              | P23                   |
| <b>F</b>         | 東口 浩子              | P67                   |
| Fort, F.         | 10, P10            |                       |
| 藤井久美子            | P14, P26, P65      |                       |
| 藤川 和男            | 9, 10, P9          |                       |
| 藤木 博太            | P38                |                       |
| 藤本 貴子            | 30                 |                       |
| 藤岡 栄一            | P53                |                       |
| 藤岡 靖弘            | P3                 |                       |
| 藤田 正一            | 17                 |                       |
| 深澤 洋史            | P15                |                       |
| 福井 昭三            | 23, P3, P6         |                       |
| 福岡 三郎            | 6                  |                       |
| 舟島 正直            | 6                  |                       |
| 降旗 千恵            | S5, 4              |                       |
| 古橋 忠和            | 14                 |                       |
| 古川 秀之            | P1                 |                       |
| <b>G</b>         | 伊藤 義明              | P65                   |
| Green, Melvin M. | 9                  |                       |
| 後藤 純雄            | P19, P21, P22, P41 |                       |
|                  | 今井 知子              | 2                     |
|                  | 今井 幸子              | 24                    |
|                  | 今西 久子              | P16, P76              |
| <b>H</b>         | 井上 誠               | P43                   |
|                  | 井上 雅雄              | P62                   |
|                  | 井上 正               | P71                   |
|                  | 井上 芳樹              | P50                   |
|                  | 乾 直道               | P52                   |
|                  | 石館 基               | 22, P5, P13, P39, P59 |
|                  | 石井 裕               | 24                    |
|                  | 石井 啓太郎             | 6                     |
|                  | 板垣 佳明              | 14                    |
|                  | 岩原 繁雄              | P2, P34               |
|                  | 岩本サカエ              | P55                   |
| <b>J</b>         | 神野 透人              | P2                    |
| <b>K</b>         | 賀田 恒夫              | P51, P58, P71, P76    |
|                  | 葛西 宏               | P29                   |
|                  | 金西 信次              | P72                   |
|                  | 加藤 真理              | P26                   |
|                  | 加藤 基恵              | P57                   |
|                  | 加藤 隆一              | 18                    |
|                  | 加藤 武司              | 24                    |
|                  | 加藤 哲太              | 2                     |
|                  | 加藤 安彦              | P7, P8                |
|                  | 加藤 幸彦              | P21                   |
|                  | 龜山 朋子              | P31                   |
|                  | 勝村利恵子              | P34                   |
|                  | 河内恵美子              | 25                    |
|                  | 河井 一明              | P1                    |
|                  | 河合 康雄              | P77                   |
|                  | 川崎 洋子              | P5                    |
|                  | 鬼頭 英明              | 30, P63               |
|                  | 菊池 康基              | 10, P9, P10, P42      |
|                  | 菊川 清見              | 2                     |

|          |                         |     |       |                    |  |       |                         |
|----------|-------------------------|-----|-------|--------------------|--|-------|-------------------------|
| 菊一 園子    | 19                      |     | 御船 正樹 | P27                |  | 難波 哲人 | 34                      |
| 木内 武美    | 21, P12, P28, P64       |     | 三沢 信一 | P75                |  | 根岸 和雄 | 26, 34                  |
| 岸 美智子    | P53                     |     | 三島 靖子 | P20                |  | 根岸 友恵 | P46                     |
| 北川 義徳    | 33                      |     | 三浦 邦彦 | P18                |  | 二井谷好行 | P7, P8                  |
| 小木曾重文    | P45                     |     | 光岡 知足 | 11                 |  | 二宮ルリ子 | P50                     |
| 小泉 明     | 12, P18                 |     | 宮部 正樹 | P25                |  | 新川 美紀 | P63                     |
| 小泉 直子    | P50                     |     | 宮越 稔  | P62                |  | 西 義介  | P52                     |
| 小島 肇     | P73                     |     | 宮前 陽一 | 27, P45            |  | 西藤 佳子 | 21, P28                 |
| 小島 基義    | P53                     |     | 宮田 直樹 | P13                |  | 西村 邇  | P29                     |
| 小松原佐和子   | 33                      |     | 宮崎 博之 | 28                 |  | 西村 孝  | 16                      |
| 小西 宏明    | P73                     |     | 水野 瑞夫 | P63                |  | 西岡 一  | 5, 31, P66, P67         |
| 米田 和子    | P56                     |     | 水谷 正寛 | P74                |  | 仁藤 新治 | P48, P49, P54           |
| 近藤 宗平    | P62                     |     | 望月 正隆 | P70                |  | 野津 敬一 | P55, P56                |
| 近藤 靖     | P48, P49, P54           |     | 森 秀樹  | P11, P12           |  | 能美 健彦 | 22, P5                  |
| 輿 貴美子    | 8                       |     | 森本 兼曩 | 受賞講演, 12, P18      |  | 布柴 達男 | 5, 31, P66, P67         |
| 熊井 淑子    | 28                      |     | 森田 健  | P53                |  |       |                         |
| 栗原 孝行    | P62                     |     | 森田 泰信 | P74                |  |       |                         |
| 黒田 孝一    | P68                     |     | 森谷 正明 | P16                |  | 小田 美光 | P35, P36                |
| 黒田 行昭    | 7, 32, P73              |     | 村上 和生 | P51                |  | 小川俊次郎 | 23                      |
| 日下部治夫    | P3                      |     | 村岡 知子 | P26                |  | 小川 正  | P64                     |
| 楠 慎一郎    | 28                      |     | 村田 共治 | P53                |  | 小原 淑子 | P27                     |
|          |                         |     | 村田 元秀 | P19, P21, P22, P41 |  | 小野真由美 | P3, P6                  |
| <b>L</b> | 李章鎬 (Lee, Jang-ho)      | P19 |       |                    |  | 小野 隆昭 | P45, P48, P49, P53, P54 |
|          | 呂鋒洲 (Lu, Fung-Jou)      | P32 |       |                    |  | 小瀬 洋喜 | 30, P63                 |
| <b>M</b> | 那須野精一                   | 1   |       |                    |  | 小笛 茂  | P3                      |
|          | 名取 信策                   | P4  |       |                    |  | 落合 雅子 | P30                     |
|          | 長原 歩                    | 1   |       |                    |  | 大橋 良子 | P26                     |
| 真部 俊一    | 18                      |     | 長尾美奈子 | 3, 33, P30         |  | 大西 淑江 | P65                     |
| 榎淵 泰宏    | 17                      |     | 永江 祐輔 | P60, P61           |  | 大西 武雄 | P55, P56                |
| 松井 啓子    | P2                      |     | 永井 祐治 | P25                |  | 大西 克成 | 21, P12, P28, P64       |
| 松井 恵子    | P5                      |     | 永瀬 久光 | 30, P63            |  | 大野 佳美 | P26                     |
| 松井 道子    | P5                      |     | 中川 礼子 | 7, P17             |  | 大島 稔彦 | P45, P53                |
| 松田 浩明    | 30                      |     | 中嶋 圓  | P53                |  | 大下 克典 | 1                       |
| 松田 良枝    | P57                     |     | 中村 稔  | P9, P10            |  | 大塚 淳宏 | P66                     |
| 松岡 厚子    | P13, P39                |     | 中村 直美 | P42                |  | 大塚 久  | 7                       |
| 松島泰次郎    | 4, P4                   |     | 中村 清一 | P35, P36, P69      |  | 大塚 泰治 | 26                      |
| 松下 秀鶴    | P19, P20, P21, P22, P41 |     | 中村 好志 | 29                 |  | 大内田昭信 | P53                     |
|          |                         |     | 中山 昌子 | P29                |  | 太田 隆文 | P31                     |

|                     |                 |       |                         |                      |                      |
|---------------------|-----------------|-------|-------------------------|----------------------|----------------------|
| 太田 敏博               | P71, P76        | 沢田 稔  | P5, P39, P59            | 田中 和彦                | P40                  |
| 尾花 裕孝               | P69             | 沢幡 正  | P24                     | 田中 健一                | P24                  |
| 尾川 博昭               | P7, P8          | 沢野 聰子 | P24                     | 田中 凉一                | P69                  |
| 及川 淳                | P29             | 猿渡 雄彦 | 8                       | 田中 善正                | P27                  |
| 岡庭 梓                | P48, P49, P54   | 世良 暢之 | 7, P17                  | 田ノ岡 宏                | P40                  |
| 岡尾 正之               | P19             | 関 敏彦  | P20                     | 田尾 勝正                | P15                  |
| 岡崎 秀                | P77             | 関谷 剛男 | 25                      | 立花 章                 | P37                  |
| 沖 岩四郎               | P35             | 芹田富美雄 | 8                       | 高木 敬彦                | P21                  |
| 奥畑 優子               | 26              | 清水 千春 | P47                     | 高橋 清                 | P22                  |
| 乙藤 武志               | 7               | 清水 英佑 | P11, P32, P44, P60, P61 | 高橋 直樹                | 16                   |
| <b>R</b>            |                 |       |                         |                      |                      |
| Ramel, Claes        | 特別講演            | 渋谷 徹  | 27, P53, P57            | 武部 啓                 | P37                  |
| 梁 治子                | S1, 9, P45      | 島田 浩美 | 19                      | 武田 明治                | P2                   |
| 劉 松原 (Ryuu, Shogen) | P8              | 島田 弘康 | P47, P53                | 武田 啓                 | P70                  |
| <b>S</b>            |                 |       |                         |                      |                      |
| 佐々木美枝子              | P72             | 曾谷 知弘 | 5, 31, P66, P67         | 玉井 功一                | P51, P58             |
| 佐々木 有               | P16, P53, P76   | 須磨 純子 | P33                     | 玉川 勝美                | P20                  |
| 佐々木裕子               | 6               | 須藤 鎮世 | 14, P53                 | 巽 紘一                 | P37                  |
| 佐藤まゆみ               | 31              | 諏訪 芳秀 | 33                      | 手塚 英夫                | P51                  |
| 佐藤 元泰               | P63             | 菅沼 雅美 | P38                     | 戸田 直子                | P29                  |
| 佐藤 精一               | P52, P53        | 杉江 茂幸 | P11, P12                | 藤堂 剛                 | 9                    |
| 佐藤 茂秋               | P13             | 杉村佳洋子 | P56                     | 常盤 寛                 | 7, P1, P17           |
| 佐藤 忠夫               | P43, P53        | 杉村 隆  | 3, 33, P30, P38         | 徳田 光男                | 23                   |
| 佐藤 孝彦               | 30, P63         | 杉山 武敏 | P41                     | 徳植 信行                | 28                   |
| 佐藤 利之               | P47             | 鈴木 淳子 | P2                      | 富田 勲                 | 29                   |
| 佐藤 裕子               | 4               | 鈴木 洋  | P53                     | 豊田万里子                | 37                   |
| 定家 義人               | P58             | 鈴木 潤三 | 16                      | 津田昌一郎                | P75                  |
| 斎藤 寛                | P27             | 鈴木 邦夫 | 11                      | 津吉 俊                 | P53                  |
| 三枝 新                | 5, 31, P66, P67 | 鈴木 静夫 | 16                      | 辻 紘一郎                | P43                  |
| 坂部 美雄               | P25             | 鈴木 徳治 | 17                      | 塙本 利之                | P50                  |
| 坂井 至通               | P63             | 鈴木 康友 | 8                       | 角田 行                 | P20                  |
| 坂本 京子               | P34             | 鈴木 勇司 | P32, P44, P60, P61      | 土川 清                 | 14, 15, 27, P16, P54 |
| 坂本 正徳               | 6               |       |                         | 董一致 (Tung, Yih-Chih) | P32                  |
| 坂本 豊                | P42, P45        |       |                         |                      |                      |
| 坂田 一矩               | P7, P8          | 田村 博信 | P53                     |                      |                      |
| 酒井 芳紀               | 27              | 田村 征男 | P25                     |                      |                      |

|          |       |          |          |       |   |                     |          |
|----------|-------|----------|----------|-------|---|---------------------|----------|
| <b>U</b> | 鵜川 昌弘 | P36      | <b>Y</b> | 矢野 素子 | 3 | 俞采植 (Yoo, Young S.) | P68      |
| 植島 基雄    |       | P28, P64 | 山田 明甫    | P47   |   | 義平 邦利               | P5       |
|          |       |          | 山上 康     | 27    |   | 吉川 邦衛               | P45      |
|          |       |          | 山口 俊平    | 28    |   | 吉見 直己               | P11, P12 |
| <b>W</b> | 若林 敬二 | 3, P30   | 山泉 二郎    | P29   |   | 吉岡 晃子               | 26       |
|          | 若田 明裕 | 13, P45  | 山本 清     | P42   |   | 吉栖 肇                | 33       |
|          | 渡辺 雅彦 | 22       | 山下 克美    | S4    |   |                     |          |
|          | 渡辺 三恵 | P16, P71 | 山添 康     | 18    |   |                     |          |
|          | 渡辺 徹志 | P3, P6   | 横山 徹     | P6    |   |                     |          |
|          | 綿矢 有佑 | 26       | 米沢さとみ    | 5     |   |                     |          |

## 化学物質名索引

### A

- AF-2 ..... 30, P68  
 Acetaminophen ..... P31, P72  
 $\alpha$ -Acetoxy nitrosamine ..... P70  
 2-Acetylaminofluorene ..... 23  
 Acetyltransferase ..... 22  
*Achillea millefolium* L. (セイヨウノコギリソウ) ..... P66  
 Adriamycin ..... P59, P75  
 Aflatoxin B<sub>1</sub> ..... P65  
 Alanine ..... P68  
 9-Aminoacridine ..... P7  
 1-Aminofluorene ..... 10  
 2-Aminofluorene ..... 23  
 Antibiotics ..... P45  
 Anthracene ..... 10  
 Antimutagenic Substance ..... P64  
 Ascorbic acid ..... P65, P67  
 Asphalt ..... P20  
 Azodicarbonamide ..... P33
- B**
- Beef extract ..... P27  
 Benz[a]anthracene peroxide ..... P1  
 Benzo[a]pyrene ..... 11, 30, P2, P61, P63  
*Betula alba* L. (バーチ) ..... P66  
 Bifidobacteria ..... P77  
 Bile ..... 21  
 Bleomycin ..... P59  
 Blue-cellulose ..... P23  
 Blue cotton ..... 2, P26  
 Blue resin ..... P27  
 5-Bromodeoxyuridine ..... P52  
 n-Butylsulfoxide ..... P36
- C**
- Caffeine ..... 13, P65  
 Captafol ..... P16
- D**
- 4, 8-DiMeIQx ..... 2  
 Dehydro vitamin C ..... 32  
 Deoxycholic acid ..... 11  
 2, 7-Diamino-3, 8-dimethylphenazine ..... P6  
 2, 4-Diaminotoluene ..... P6  
 Dibenz[a, h]anthraquinone ..... P1  
 1, 2-Dibromoethane ..... P16  
 1, 2-Dichloroethane ..... P16  
 1, 3-Dichloropropene ..... P16  
 Diepoxybutan ..... P9  
 Diesel exhaust emissions ..... 6, P18  
 2', 3-Dimethyl-4-aminobiphenyl ..... 11  
 Dimethylbenz[a]anthracene ..... 10, 17, P53  
 1, 1-Dimethylhydrazine ..... P61  
 1, 2-Dimethylhydrazine ..... 11
- E**
- ENNG ..... P43  
 Ellagic acid ..... P65  
 Enterococci ..... P77  
 Epigallocatechin gallate ..... 29  
 Erythropoietin ..... P61  
 Ethylene oxide ..... P44  
 Ethyl methanesulfonate ..... P9, P53, P57, P73  
 Ethyl nitrosourea ..... 9, 14, 15, 27, P53, P54  
 エノキタケ ..... P64
- F**
- 5-FU ..... P10  
 Fenton reagent ..... 19  
 Flavonoid ..... 23  
 Fluorene ..... 10  
 Food ..... 2, 3, P25, P26, P28  
 Fluorescent substances ..... P32  
 5-Fluorodeoxyuridine ..... P52  
 5-Fluorouracil ..... P9
- G**
- Glu-P-1 ..... 25
- H**
- Gentiana lutea L. (ゲンチアナ) ..... P66  
 Glucose ..... P68  
 Glucose oxidase ..... P59  
 Glutathione conjugate ..... 21  
 Glutathion-S-transferase ..... 28
- I**
- N-Hydroxy-Glu-P-1 ..... 18, 34  
 N-Hydroxy-IQ ..... 18  
 N-Hydroxy-Trp-P-2 ..... 26, 33, 34  
 Harman ..... P7, P35  
 Heterocyclic amine ..... 33  
 Hydrazine derivative ..... P11  
 Hydrogen peroxide ..... 5, 20, P45, P58  
 N-Hydroxy-2-acetylaminofluorene ..... 23  
 4-Hydroxyaminoquinoline N-oxide ..... 34  
 8-Hydroxydeoxyguanosine ..... P29  
 Hydroxymethylreductive acid ..... P29  
 $\alpha$ -Hydroperoxynitrosamine ..... P70  
 $\alpha$ -Hydroxynitrosamine ..... P70  
 Hydroxyurea ..... P15
- J**
- IQ ..... 18, 20, P64
- K**
- 柿茶熱湯抽出エキス ..... 29  
 紅茶熱湯抽出エキス ..... 29  
 カミツレ ..... P66
- L**
- Lactic acid ..... P64  
 Lactobacilli ..... P77  
 Linolenic acid ..... P64

## [M]

- MeIQx ..... 2, P27  
 MNNG ..... 11, P56, P68, P74  
 Matricaria chamomilla L. (カミツレ) ..... P66  
 Menadione ..... P59  
 6-Mercaptopurine ..... P52, P53  
 Metal Salts ..... P7  
 1-Methylindole ..... P30  
 2-Methylindole ..... P30  
 Methyl methanesulfonate ..... P51, P57, P73  
 Methyl nitrosourea ..... 27, P62  
 Methylphenyl sulfoxide ..... P36  
 Methylreductive acid ..... P29  
 Methylsulfide ..... P36  
 1-Methyl-DL-tryptophan ..... P30  
 1-Methyl-1, 2, 3, 4-tetrahydro- $\beta$ -carboline-3-carboxylic acid (MTCA) ..... P14  
 Mitomycin C ..... 12, 13, P48, P49, P50, P51, P55, P56, P60, P61, P76  
 Myoglobin ..... 20

## [N]

- Naphthacenequinone ..... P1  
 $\beta$ -Naphthylamine ..... P61  
 Neocarzinostatin ..... P75  
 Nitrogen dioxide ..... P20  
 2-Nitro-3-acetylamino-dibenzofuran ..... P4  
 3-Nitro-4-acetylamino-dibenzofuran ..... P4  
 2-Nitro-3-amino-dibenzofuran ..... P4  
 Nitrobenzene ..... 16  
 1-Nitro-dibenzofuran ..... P4  
 2-Nitro-dibenzofuran ..... P4  
 3-Nitro-dibenzofuran ..... P4  
 1-Nitrofluorene ..... P13  
 2-Nitrofluorene ..... 22, 30  
 1-Nitropyrene ..... 21, P12, P13, P19, P28  
 1-Nitropyrene-4, 5-oxide ..... 21  
 1-Nitropyrene-9, 10-oxide ..... 21  
 4-Nitroquinoline 1-oxide ..... 25, P55, P56  
 Nitroreductase ..... 22  
 N-Nitrosamine ..... 19, 28

- Nitrous acid ..... 1  
 Nitroso alkylurea ..... P70  
 N-Nitrosodimethylamine ..... P46, P77  
 1-Nitrosoindole-3-acetonitrile ..... 4  
 N-Nitrosomorphorine ..... P46  
 Nitroso-Trp-P-2 ..... 34  
 Norharman ..... 16, P35  
 ニトロソ化変異原前駆物質 ..... 3

## [O]

- 4, 4'-Oxybis(benzene sulfonylhydrazide) ..... P33

## [P]

- Peroxidase ..... 33  
 Phenylhydroxylamine ..... 16  
 Phorbol esters ..... P38  
 Proline ..... 28  
 Psoralen ..... P55, P56  
 Pyrene ..... 10  
 Pyridine derivative ..... P8

## [Q]

- Quercetin ..... 23

## [R]

- Rat cytosol ..... 18  
 緑茶熱湯抽出エキス ..... 29

## [S]

- Sodium arsenite (NaAsO<sub>2</sub>) ..... 31  
 Sodium chloride ..... P47  
 Sodium Nitrite ..... 28, P31  
 Sodium serenite (Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>) ..... 31  
 Soy sauce ..... 1  
 Steviol ..... P5  
 Stevioside ..... P5  
 Streptococci ..... P77  
 Sudan III ..... 17  
 Superoxide dismutase ..... 34, P75  
 セイヨウノコギリソウ ..... P66

## [T]

- TPA(12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate) ..... 29  
 Trp-P-1 ..... P63  
 Trp-P-2 ..... 20, 33, P63  
 Tannic acid ..... P65  
 Tegafur ..... P10  
 Thymidine ..... P47, P52  
 $\alpha$ -Tocopherol ..... P67  
 Triethylenemelamine ..... 9  
 Tyramine ..... P14

## [U]

- UV ..... P46, P69  
 Uric acid ..... P67  
 Uridine ..... P52

## [V]

- Vanillin ..... P71, P76  
 Vincristine ..... P50  
 Vinyl chloride ..... P44  
 Vitamin A ..... 32  
 Vitamin C ..... 32  
 Vitamin E ..... 32

## [X]

- Xanthine oxidase ..... 33  
 X-Ray ..... 9

## 謝 辞

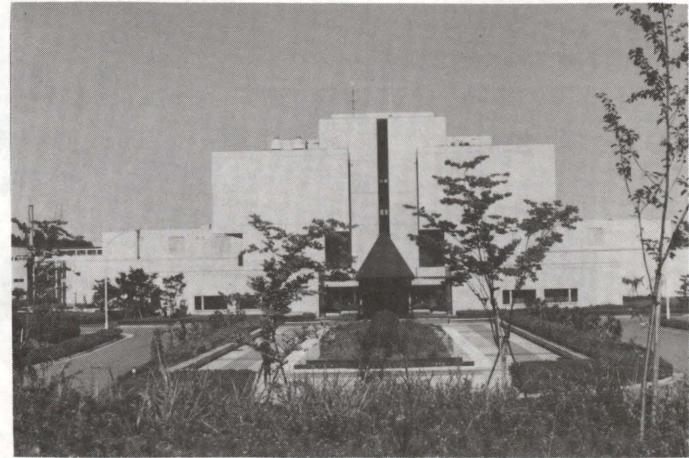
本大会を開催するにあたり下記の企業および団体より多大の御援助を頂きました。  
ここに記して感謝の意を表します。

日本環境変異原学会第15回大会準備委員長  
松 島 泰次郎

旭化成工業株式会社  
株式会社 アドバンス  
家田貿易株式会社  
稻垣薬品興業株式会社  
岩井化学薬品株式会社  
エルゼビア サイエンス パブリッシャーズ  
大塚製薬株式会社大塚アッセイ研究所  
大塚化学株式会社 農薬生物科学研究所  
オリエンタル酵母工業株式会社  
株式会社オリンパス  
(財)化学品検査協会 日田研究所  
桂化学株式会社  
鐘淵化学工業株式会社  
キッコーマン株式会社 生物科学研究所  
協同飼料株式会社  
協和メデックス株式会社  
広栄化学工業株式会社  
小西六写真工業株式会社  
株式会社 小林コーネー研究所  
株式会社 サイエンスフォーラム  
三共株式会社 安全性研究所  
サンスター株式会社  
サントリー株式会社  
塩野香料株式会社  
株式会社 資生堂  
株式会社 島田理化学  
住友化学工業株式会社  
株式会社 相互生物医学研究所  
第一化学薬品 株式会社  
三菱化成食品株式会社

第一製薬株式会社 中央研究所  
大日本製薬株式会社  
高砂香料工業株式会社  
武田薬品工業株式会社中央研究所  
田辺製薬株式会社  
中外製薬株式会社開発研究所  
株式会社東京エム・アイ商会  
東菱薬品工業株式会社  
東洋インキ製造株式会社開発研究所  
東レ株式会社  
徳山曹達株式会社藤沢研究所  
日清化学株式会社  
(社) 日本化学物質安全・情報センター  
日本コカ・コーラ株式会社  
日本バイオアッセイ研究センター  
株式会社野村生物科学研究所  
フナコシ薬品株式会社  
ベーリンガー・マンハイム山之内株式会社  
ヘキストジャパン 株式会社総合開発研究所  
ベクトン・ディッキンソン・オーバーシーズインク  
ポーラ化成工業株式会社横浜研究所  
三井石油化学工業株式会社  
株式会社ヤクルト本社中央研究所  
山之内製薬株式会社  
ユサコ株式会社  
ライオン株式会社生物科学研究所  
リコーテクノリサーチ株式会社  
和光純薬工業株式会社  
吳羽化学工業株式会社 ( 50 音順 )

# JAPAN BIOASSAY LABORATORY



## 受託試験の内容

### ● 吸入毒性試験・経口等毒性試験

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

### ● 変異原性試験

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

### ● その他

中央労働災害防止協会  
日本バイオアッセイ研究センター  
〒257 神奈川県秦野市平沢2445番地  
TEL. 0463-82-3911(代)



umu-テスト

# ウムラック

## 変異原性試験キット

ウムラックは、DNAへの損傷により誘発される一連の遺伝子群(SOS遺伝子)のうち突然変異に直接関与しているumu遺伝子の発現を $\beta$ -galactosidase活性を指標として測定する試薬です。

- 特長**
- 単一試験菌株で可
  - 高感度 Ames法と同程度
  - 簡便 無菌操作など特殊な設備を必要としない

- 多数迅速 マイクロプレート2枚/キット、約6時間
- 代謝活性化 すべてのwellで可
- ヒスチジン含有物質可
- 容易な判読 カラーインデックスの利用

大塚  
アッセイ  
研究所

大塚製薬株式会社  
〒771-01 徳島市川内町平石字夷野224-18  
☎ 0886(65)1721(代)

札幌営業所 ☎ 011(271)5871(代)  
仙台営業所 ☎ 0222(72)4300(代)  
東京営業所 ☎ 03(342)7871(代)  
名古屋営業所 ☎ 052(951)1891(代)  
富山営業所 ☎ 0764(91)1451(代)  
大阪営業所 ☎ 06(943)7733(代)  
徳島営業所 ☎ 0886(65)1721(代)  
広島営業所 ☎ 082(294)9278(代)  
福岡営業所 ☎ 092(271)6689(代)

ラット初代培養肝細胞

# ヘパプレート<sup>®</sup>

培養肝細胞をそのままお届けします!

- 特長**
- In vitro で 動物実験ができます
  - 生体内機能を維持した Hepatocyte
  - 定量的取扱いが可能な ミニ肝臓

### 試薬内容

ヘパプレート<sup>®</sup> (ラット初代培養肝細胞単層培養プレート) 5枚  
培養用カバー(滅菌済) 5枚  
培養液(L-15M) 70ml×3本  
※ウィスター系ラット使用

研究用・生物教材用 蚕の人工飼料

# ビタシルク<sup>®</sup>

200頭用 1kg、50頭用250g (全令用セット)

研究者の皆様へ  
実験動物としてのカイコが注目されています!

カイコは簡単に飼え、世代の交代が早いという優れた特長をもつ実験動物として、多くの研究機関で、多方面にわたる研究に使われています。ビタシルクの効果は第16回国際昆虫学会議に発表し、世界中の多くの研究者から高く評価されました。

## 蚕の能力をフルにひき出す人工飼料 ビタシルク

実験動物としての蚕の、すばらしい特質を充分に活用するためには、いつでも、どこでも簡単に入手できる良質のエサが必要になります。

蚕用乾体人工飼料 ビタシルクは、水に浸すだけで使えるインスタント飼料です。

ビタシルクは、家畜やペットのエサの総合メーカー協同飼料が開発した画期的な蚕用乾体人工飼料で、すでに世界7ヶ国との特許もとり、国内外の多くの研究・教育機関で、好評のうちに活用されています。

- ビタシルクによって、めんどうなエサ作りの手間がなくなりました。
- ビタシルクは添食試験に最適です。——物質検定に  
——遺伝、生理、病理の研究に  
——核酸、ホルモン等の研究に
- ビタシルクは長期保存ができます。
- ビタシルクは蚕以外でも、大部分の鱗翅目昆虫の幼虫、雑食性昆虫の幼虫用にお使いいただけます。

蚕の簡易無菌飼育装置

# バイオフレーム<sup>®</sup>

### ☆卓上用

(実用新案登録1538814)

### ☆標準型

(実用新案出願公告昭59-30683)

- 研究用・生物教材用の蚕飼育に
- 植物の培養にも簡便にお使いいただけます。

- 10万頭程度の蚕(全令)の飼育が楽にできます。
- 除菌装置付き恒温恒湿室として、バイオテクノロジーの研究に最適です。
- 中棚を調節すれば植物の培養にもお使いいただけます。

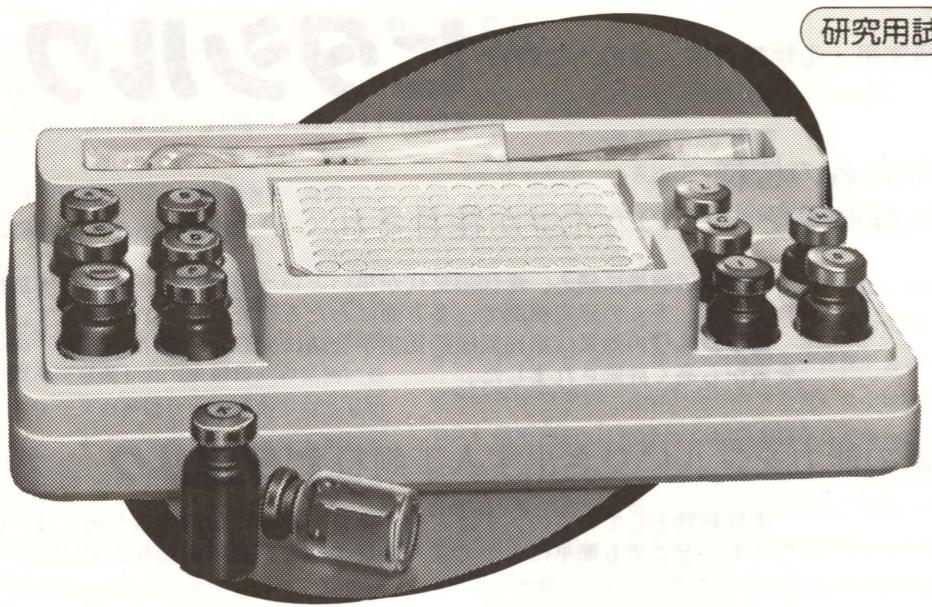
協同飼料株式会社

ビタシルク販売株式会社

本社: 231 横浜市中区日本大通18  
☎ 045-641-5861

本社: 453-91 名古屋市中村区則武1-8-12  
(側島ビル内) ☎ 052-452-1517

◎ 技術的なお問合せは協同飼料株式会社研究所 生物資源課が承ります。  
240 横浜市保土ヶ谷区権太坂1-6-2 ☎ 045-715-0360

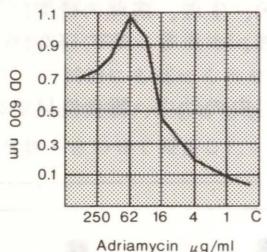


研究用試薬

—変異原性物質のスクリーニングに—  
S.O.S.反応検出用

## S.O.S. CHROMOTEST

Fast and economical colorimetric detection of GENOTOXICITY



S.O.S. Chromotest はDNA修復機構のS.O.S.反応を酵素(β-ガラクトシダーゼ)呈色反応として迅速、簡便に検出する試験法です。S.O.S. Chromotest の試験菌(大腸菌)は、変異原性物質に極めて鋭敏に反応し、S.O.S.反応が誘導されるとその強さに相当するβ-ガラクトシダーゼを產生します。

### ●特長●

1. 酵素による呈色反応を利用しているので高感度。微量(0.1~0.5mg)のサンプルで分析。
2. 分析は約7時間で終了。
3. 試薬類は総てKit化。
4. クリーンベンチ等、特別な装置・設備は不用。
5. 変異原性の強さを数値で表示。
6. AMES法と良く相関。
7. 医薬品、農薬、化学品、食品、水、尿、あるいは血漿等広範囲なサンプルに使用できる。
8. 以下の試験に最適。
  - i) 医薬品・農薬等の新規物質のスクリーニング。
  - ii) 化学品・食品添加物の変異原性の検出。
  - iii) 作業環境・廃液等における変異原性物質の汚染調査。等

製造 **organics ltd.**

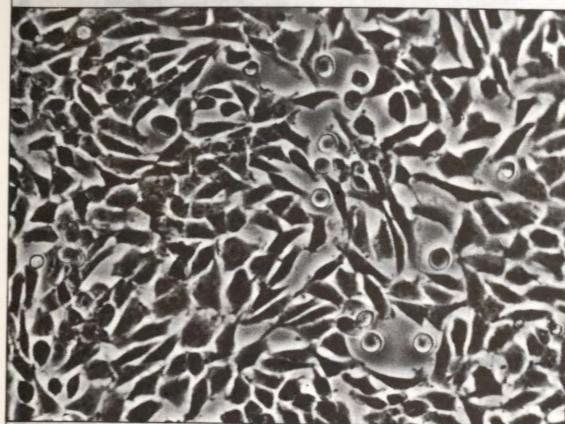
販売 **協和メデックス株式会社**

〒100 東京都千代田区大手町1-6-1 大手町ビル TEL 03(201)7211(代表)

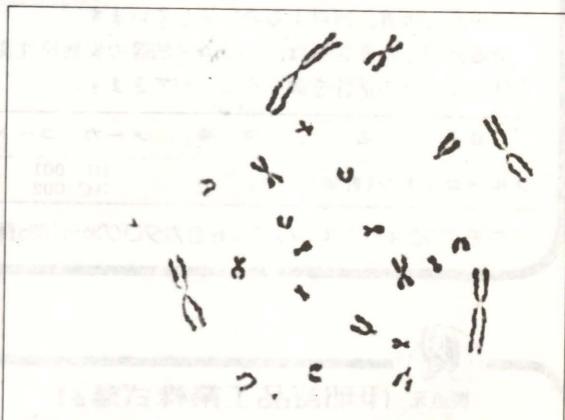


# CHL/IU

## —染色体異常試験用細胞株—



位相差顕微鏡像



染色体像

近年、医薬品等の生活関連物質のヒトに対する安全性を評価する上で、短期間に多くの物質についてスクリーニングが出来る微生物あるいは哺乳動物細胞を用いた変異原性試験の重要性が指摘されております。

哺乳動物培養細胞を用いる試験では以下の特徴を持つ新生チャイニーズハムスター肺由来CHL/IUが最適です。

### 由来

本細胞は1968年癌研究会癌研究所、宇多小路らの手で新生チャイニーズハムスター雌の肺より分離された線維芽様細胞である。

1974年国立衛生試験所、石館は本細胞につき更に数回のクローン化を行い染色体数25本、倍化時間は約15時間の細胞株を分離しCHL/IUと命名した。

**P** 大日本製薬株式会社  
ラボラトリー プロダクツ部

〒564 大阪府吹田市江の木町33-94  
TEL 大阪(06)386-2164(代表)



住友化学工業株

## 変異原物質吸着綿 ブルーコットン〔青綿〕

ブルーコットン(青綿)は、トリスルホ銅フタロシアニンを脱脂綿に共有結合で固着したものです。

通常、銅フタロシアニン核が約10  $\mu$ moles/g含まれています。

この綿は変異原物質、特に縮合芳香環化合物で環を3個以上持つものを強く吸着します。この吸着は水溶液中で起りますので、これら変異原を、その稀薄な水溶液中から吸着、回収するのに適しています。

分離回収した変異原は、エイムス法等の変異原性測定法によりその活性を調べることができます。

| 品名          | 包装         | メーカーコード          |
|-------------|------------|------------------|
| ブルーコットン(青綿) | 5g<br>5g×5 | BC-001<br>BC-002 |
|             |            |                  |

※詳細につきましては“フナコシ総合カタログNo5”686頁および“フナコシ技術レポートNo27”をご参考下さい。



製造元 伊那食品工業株式会社

研究用試薬

## 培地用高品質“寒天”

### INA AGAR<sup>®</sup>

寒天製造業界で品質が高く評価され、又世界一の生産量を誇る伊那食品工業株が、この度、培地用の高品質“寒天”を2種類発売致しました。

同社の長い経験から生れた優れた技術により、品質の一定した高品質の寒天をお求めやすい価格で供給する事ができるようになりました。

#### ■価格

| Cat. No.   | 品名          | 包装   | 価格     |
|------------|-------------|------|--------|
| 42-0600-10 | 高品質寒天 BA-10 | 500g | ¥5,500 |
| 42-0600-30 | ” BA-30     | 100g | ¥3,000 |
| 42-0610-30 | ” BA-30     | 500g | ¥9,000 |

※サンプル御希望の方はフナコシ薬品株へお申し込み下さい。



フナコシのライフサイエンス研究用試薬と機器

発売元

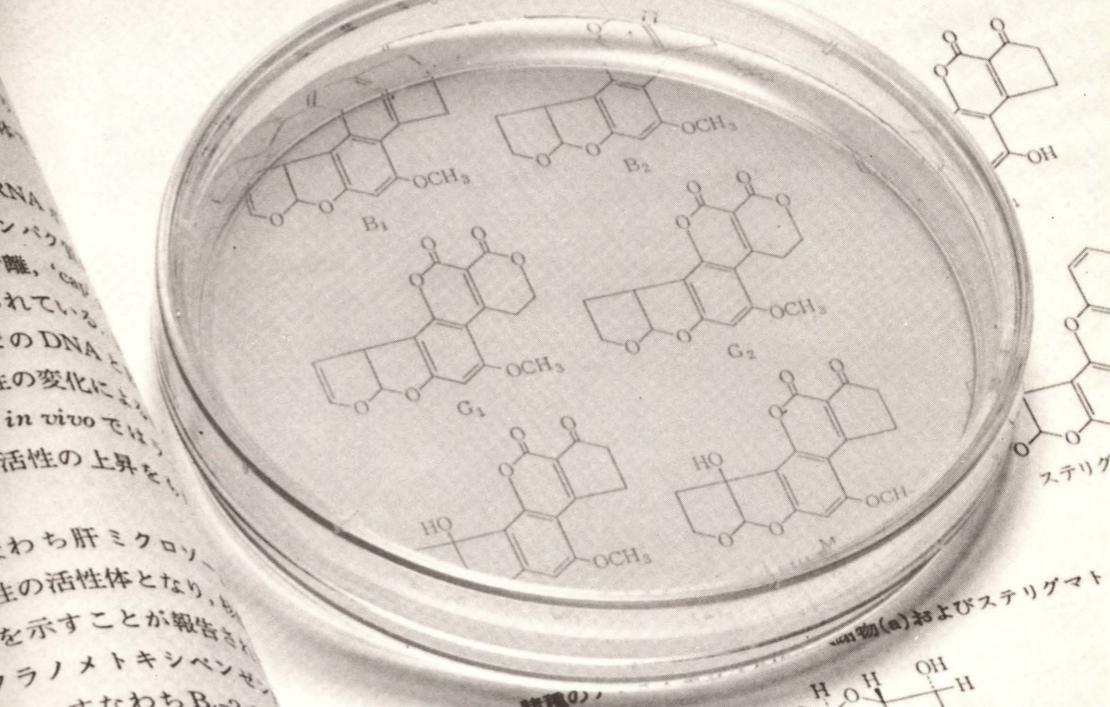


フナコシ薬品株式会社

サイエンス事業部 研究機材課 ☎ 03(293)2352  
〒101 東京都千代田区神田駿河台2-3

突然変異原性試験用最少グルコース寒天生培地

## テヌメディア<sup>®</sup>A



■テヌメディア<sup>®</sup>A培地は簡単で、培地作りの手間が省け、変異原性試験の効率化が図れる信頼できる生培地です。

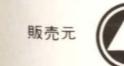
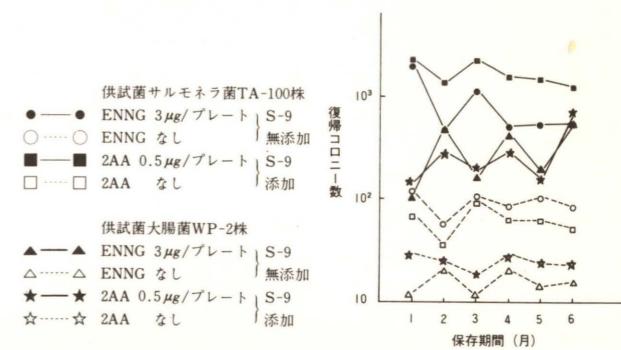
### 一特長

■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。常に均一な培地を必要な時いつでもご利用いただけます。

■放射線滅菌した専用のシャーレ、ポリ袋を使用しております。室温(15~25°C)暗所保存で6ヶ月間安定です。

■図表は本培地の保存性を示したものです。各種変異原物質に対するサルモネラ菌TA-100株大腸菌WP-2株の復帰試験成績を表しております。



和光純薬工業株式会社

本社 大阪市東区道修町3丁目10番地  
〒541 Tel 06(203)3741  
東京支店 東京都中央区日本橋本町4丁目7番地  
〒103 Tel 03(270)8571



日清化学株式会社

本社 東京都中央区日本橋小網町19番12号  
〒103 Tel 03(660)3511

