

環境変異原研究

Environmental
Mutagen
Research
Communications

日本環境変異原学会
(EMS Japan)
第16回大会 (京都)
要旨集

Sakai Arimoto

075-222-0092

16th Annual Meeting of The Environmental Mutagen Society of Japan

日本環境変異原学会
第16回大会(京都)
要旨集

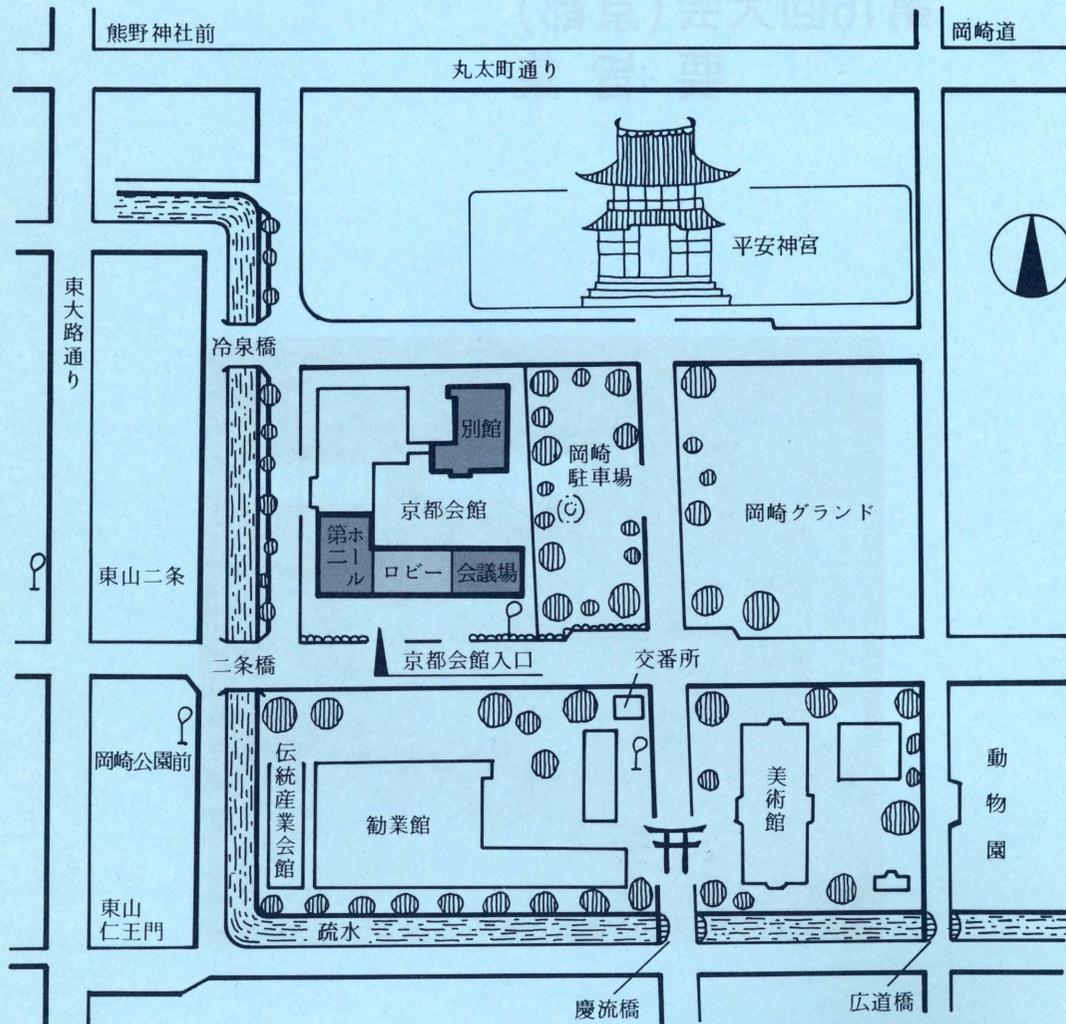


Oct. 27-28, 1987
KYOTO

ご案内

1. 会 期 1987年10月27日(火)AM. 9:00 — 28日(水)PM. 5:35
2. 会 場 京都会館第二ホール(口演)・会議場(示説)
〒606 京都市左京区岡崎 TEL (075)771-6051(代)

【会場周辺図】



利用交通機関

バス：JR京都駅から

市バス 5号系統 「京都会館・美術館前」下車
206号系統 「東山二条」下車

四条河原町から

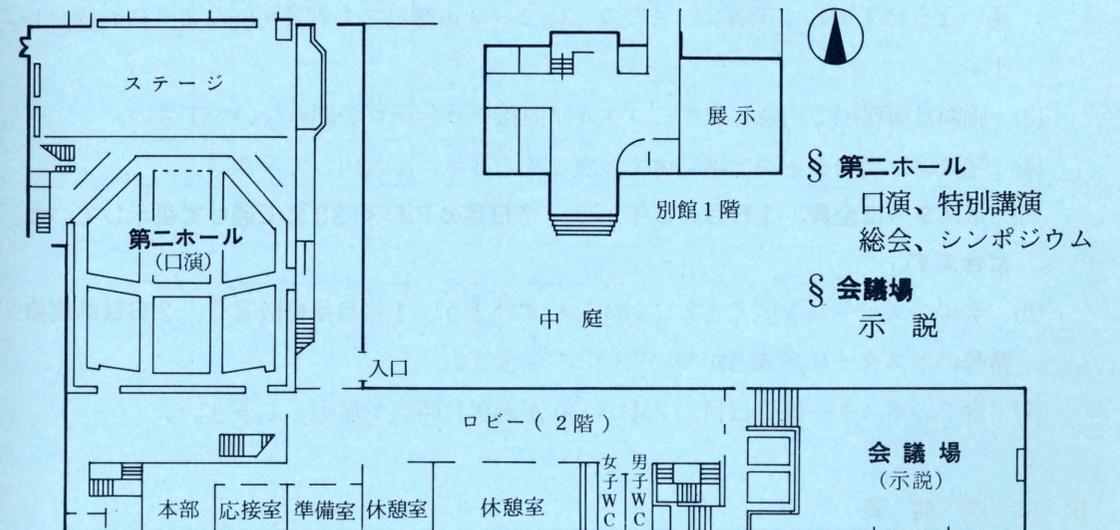
市バス 5、27、32号系統 「京都会館・美術館前」下車
46号系統 「岡崎公園前」下車
31、201、203号系統 「東山二条」下車

タクシー：JR京都駅から 約20分、1500円程度
四条河原町から 約15分、1000円程度

昼食

京都会館内の食堂(2F・都ホテル経営)または、会場周辺のレストラン・食堂をご利用下さい。

【会場位置図】



3. 参加登録

受付は10月27日(火) AM. 9:00より第二ホールロビーにて行います。
参加費6,000円、懇親会費4,000円で、当日も受付けています。
会場では必ずネームプレートをご着用下さい。

4. 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り付けて下さい。このうち、
演題番号は大会事務局で用意しますので記入しないで下さい。

標題、氏名(所属)は演題番号の右の20cm×155cmのスペースに記入して下さい。

残りのスペースは自由にご使用下さい。ただし、なるべく目的・方法・結果・考察などに分け、理解し、
易いように工夫して下さい。また文字は2-3m離れても判読可能なようにお願いします。

(3) 画鋲は事務局で用意します。パネルに直接セロテープで貼らないで下さい。

(4) 発表者は当日、示説会場受付でお渡しするリボンを着用して下さい。

(5) ポスターは全員、1日目の正午から、2日目のPM. 3:30まで通して掲示していただきます。

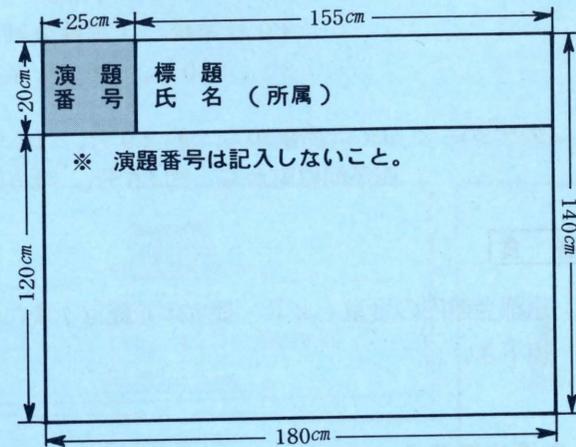
(6) 会場のスペースを広くとり、討論しやすいよう、1日目は奇数番号、2日目は偶数番号のポスターに発表者がついでいただきます。

(7) 全てのポスターは2日目のPM. 3:30が過ぎた時点で撤去して下さい。

5. 口演発表

(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35mm版10枚以内です。同じスライドを再度使用される時は2枚ご用意下さい。



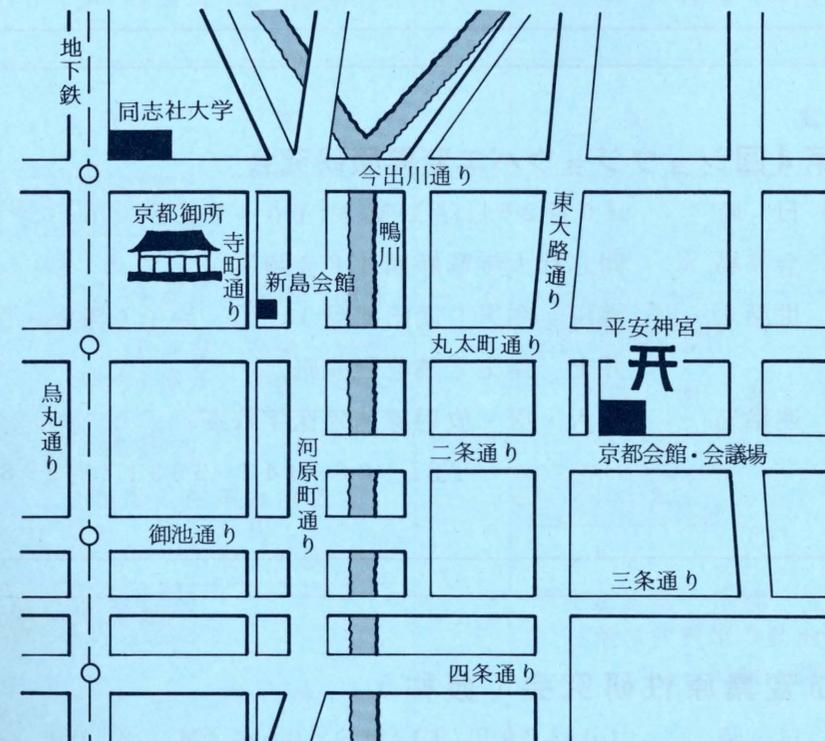
(3) プロジェクターは一台です。

(4) スライドは発表30分前までにスライド受付で各自所定のホルダーに入れ、試写してご確認下さい。発表後、受付でスライドを速やかにお受け取り下さい。

6. 懇親会

10月27日(水)(1日目) PM. 6:30より同志社・新島会館(京都市上京区寺町丸太町上ル TEL 221-7931)で行います。

(下図参照)



関連集会のお知らせ

§ MMS分科会第12回定例研究会

日時 : 10月26日(月)PM.2:00~PM.6:00
 会場 : 同志社大学寧静館4F会議室
 世話人 : 祖父尼 俊雄(国立衛試)
 連絡先 : MMS分科会事務局
 国立衛生試験所・変異原性部内
 TEL:03-700-1141(内435)

§ 第4回ショウジョウバエ変異原研究会

日時 : 10月26日(月)PM.6:00~PM.9:00
 会場 : 同志社大学寧静館4F会議室
 世話人 : 藤川 和男(武田薬品)、梁 治子(阪大・医)
 井上 達生(残留農薬研)
 連絡先 : 阪大・医・放射線基礎医学教室
 TEL:06-443-5531(内298)

§ 抗変異原性研究会(仮称)

日時 : 10月29日(木)AM.9:00~AM.12:00
 会場 : 同志社大学寧静館4F会議室
 世話人 : 西岡 一・布柴 達男(同志社大・生化研)
 連絡先 : 同志社大・工・生化研
 TEL 075-251-3919(直通)

日程表

10月27日(火)		10月28日(水)	
9:00	受付	9:00	口演
9:25	大会長挨拶 西岡 一		
9:30	口演		機構 21~23座長 佐々木正夫 24~26座長 加藤 隆一 代 謝 27~30座長 田ノ岡 宏 修 飾 31~34座長 石館 基
	検出 1~3座長 大西 克成 4~7座長 白須 泰彦 8~11座長 長尾美奈子	12:00	昼食
12:00	昼食		
13:00	口演	13:00	総会 受賞講演
	検出 12~14座長 菊池 康基 試験法 15~17座長 黒田 行昭 18~20座長 早津 彦哉	14:00	示説
15:00	特別講演		偶数番号
	「活性酸素の生成と消去」 浅田 浩二先生 司会 西岡 一	15:30 15:35	シンポジウム
16:00	示説		「突然変異の機構 —環境変異原の見地から」 司会 武部 啓
	奇数番号	17:35	
17:30			
18:30	懇親会 同志社・新島会館		
20:30			

掲示期間 10月27日(火)12:00~28日(水)15:30

質疑時間 奇数番号 10月27日(火)16:00~17:30

偶数番号 10月28日(水)14:00~15:30

◇は発表者

ご注意：ポスターは、全員が一斉に10月27日正午から掲示して下さい。

検 出

- P-1** ディーゼルタールによる染色体障害および形態転換誘発効果：
◇長谷川 真樹子、西 義介、津田 弘久、乾 直道、森本 兼曩
(日本たばこ産業、東大・医・公衆衛生)
- P-2** 環境水および土壌中におけるニトロピレンの安定性：
◇西藤 佳子、木内 武美、大西 克成(徳島大・医)
- P-3** ポリウレタンフォーム燃焼物の変異原性について：
◇平山 晃久、小野 真由美、渡辺 徹志、福井 昭三(京都薬大)
- P-4** 2,4-diaminotoluene 酸化生成物及び phenazine 誘導体の変異原性について：
◇渡辺 徹志、平山 晃久、小野 真由美、福井 昭三(京都薬大)
- P-5** ニッケルヒューム吸入暴露ラットの骨髓細胞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、鈴木 康友(労働省産業医学総合研)
- P-6** Micro-forward mutation 法を用いた室内空気の変異原性：
◇高木 敬彦、後藤 純雄、杉田 佐和子、松下 秀鶴、村田 元秀
(麻布大・獣医、公衆衛生院・地域環境衛生)

- P-7** 低イオウ燃料によるディーゼル排出物の変異原性の低下：
◇松下 秀鶴、遠藤 治、郭 錦堂、山内 恒幸、田辺 潔、後藤 純雄、
岩井 和郎(公衆衛生院・地域環境衛生、結核予防会結核研)
- P-8** プラスチック燃焼生成物の変異原性(Ⅱ)変異原性物質の同定：
◇佐藤 正敏、田苗 裕幸、三枝 新、布柴 達男、西岡 一
(ユニチカ環境技術センター、同志社大・生化研)
- P-9** 煙草タールの硝酸・亜硝酸処理による変異原の生成：
◇世良 暢之、堀川 和美、常盤 寛(福岡県衛生公害センター)
- P-10** ニトロアレーンの小核誘発能：
◇堀川 和美、乙藤 武志、世良 暢之、常盤 寛
(福岡県衛生公害センター)
- P-11** 製紙工場排水の変異原性と魚類に対する腫瘍誘発能：
◇木苗 直秀、山下 みつ子、大長 典子、富田 勲、木村 郁夫、
中村 元二、熊井 英水
(静岡薬大、愛知がんセンター、近大・水産研)
- P-12** 東京都における水道水の変異原性：
◇大月 孝之、木藤 耕一、中西 準子(東大・工)
- P-13** ヒト糞便中ステロイドのマウス大腸上皮に対する核毒性：
◇鈴木 邦夫、光岡 知足(理化研、東大・農)
- P-14** H_2O_2 とHistidine から形成される adduct の染色体異常誘発機構：
◇大屋 幸子、山本 興太郎(神奈川衛生短大、東京医歯大)
- P-15** 亜硝酸による Amino-imidazoazaarenes から直接型変異原の生成：
◇笹川 千晶、滝本 めぐみ、松島 泰次郎(東大・医科研)

- P-16** Acetaminophen と亜硝酸との反応による diazoquinone 型変異原の生成：
◇太田 隆文、亀山 朋子、織部 博章、滝谷 昭司（東京理科大・薬）
- P-17** 調理食品の突然変異原性について〔Ⅶ〕焼肉の変異原活性に及ぼす調理方法の影響：
◇久岡 祥子、藤井 久美子、大野 佳美、村岡 知子（山陽学園短大）
- P-18** 調理食品の突然変異原性について〔Ⅷ〕ショウジョウバエ翅毛スポットテストによる検索：
◇村岡 知子、加藤 真理、久岡 祥子、根岸 友恵、大下 市子（山陽学園短大、岡山大・薬、大下学園女子短大）
- P-19** 加熱羊肉中の変異原、前変異原の検索：
◇橋爪 崇、辻沢 広、小坂 和生、木苗 直秀、小沢 敬弘、富田 勲（和歌山県衛生公害研究センター、静岡薬大）
- P-20** アミノイミダゾキノリン化合物の光照射により生成する直接変異原物質：
◇若林 敬二、塩谷 まみ、Spiros Grivas、Silvio De Flora、長尾 美奈子、杉村 隆（国立がんセンター、University of Genoa）
- P-21** Tyramin 及び MTCA のラット骨髄細胞における変異原性（第二報）
◇藤江 喜美子、杉山 武敏（大阪女子大、神戸大・医）
- P-22** SOS 反応の誘導を指標としたマイコトキシンの変異原性：
◇阿部 賢一、上野 芳夫（東京理科大・薬）
- P-23** N-Propyl-N-nitrosourea はマウス精原細胞に突然変異を誘発する：
◇渋谷 徹、室田 哲郎、常盤 俊之、松本 浩孝、堀谷 尚古、原 巧（食品薬品安全性センター、三菱化成）
- P-24** PNU によるショウジョウバエ伴性劣性致死突然変異の誘発：
◇原 巧、渋谷 徹（食品薬品安全性センター）

- P-25** シクロスポリンでヒト末梢リンパ球に誘発される SCE と染色体異常：
◇津田昌一郎、谷脇雅史、三沢信一、瀧野辰郎、福田雅武、岡隆宏、坂田由紀子、大江武、稲沢譲治、阿部達生（京都府立医大）
- P-26** 新規抗癌抗生物質 FK 973 の染色体異常誘発作用：
◇宮前 陽一、平井 収、小原 要、橋本 正晴、天正 明（藤沢薬品）
- P-27** 催奇形剤の in vivo DNA 修復試験：
◇梁 治子、井上 裕章、吉川 邦衛、藤川 和男、野村 大成（阪大・医、三菱化成、武田薬品）
- P-28** フルフラール類の変異原性：
◇龔 瑞林、満生 昌太、野中 美智子、大村 浩久（九大・農）
- P-29** ムスカリン性アゴニストの変異原性：
◇保地 真一、矢嶋 信浩、岸 健彦、川西 悟生（雪印乳業）
- P-30** 高分子医用材料の変異原性について：
◇高橋 淳子、井坂 英彦（食品薬品安全センター）
- P-31** キノキサリンダイオキサイド誘導体の変異原性：
◇高萩 真彦、布柴 達男、西岡 一（同志社大・生化研）
- P-32** 元素の周期律と DNA 損傷性：
◇小林 勇、倉塚 太刀夫、内海 昭（川崎市衛研、川崎市立井田病院、通産省工業技術院）
- P-33** 有機ヒ素化合物の変異原性：
◇円藤 吟史、黒田 孝一、清田 郁子、堀口 俊一（大阪市大・医・環境衛生、大阪市立環境科学研）

P-34 エンジオールレダクトンの変異原性：
◇野中 美智子、大村 浩久（九大・農）

○ P-35 翅毛スポットテスト
—発癌物質の変異原性とその修飾因子について—：
◇西崎 千春、根岸 友恵、早津 彦哉（岡山大・薬）

P-36 ショウジョウバエの修復能欠損二重変異株 mei-9^a mei-41^{D5} 幼虫の4-amino-
biphenylと2-aminobiphenyl に対する致死感受性：
◇肥後 ひろみ、藤川 和男、佐藤 幸男（広島大・原医研、武田薬品）

P-37 ジアゾキノンの生成とその変異原性：
◇加藤 哲太、菊川 清見（東京薬大）

P-38 米国NTP計画との協力研究—25種化合物の染色体異常試験：
◇松岡 厚子、沢田 稔、畑中 みどり、祖父尼 俊雄、石館 基
（国立衛試）

P-39 F₁ 奇形誘発に関する精祖細胞の各種変異原に対する遺伝的反応：
◇長尾 哲二、石塚 康夫、和田 あづさ、水谷 正寛
（食品薬品安全センター）

試 験 法

P-40 1,3-ブタジエンの捕集バックを用いた変異原性試験：
◇野口 忠、荒木 明宏、高橋 典代、松島 泰次郎
（労働衛生検査センター、日本バイオアッセイ）

P-41 Balb / c3T3 cell を用いたCell Transformation 試験法の検討：
◇野本 邦子、稲山 真理子、村上 仁一、小木曾 重文、吉武 彬
宮本 純之、角永 武夫（住友化学、阪大・微研）

P-42 細胞増殖自動解析装置による抗菌性物質の復帰変異試験
◇島田 弘康、佐武 左知子（第一製薬）

P-43 変異原性試験に用いる細胞とその感受性などについて：
◇田中 憲穂、山影 康次、上杉 透、岩崎 弥平次
（食品薬品安全センター、小西六写真工学）

P-44 “ Mouse hemoglobin mutation assay ” について：
◇室田 哲郎、宮川 誠、井上 由起、吉川 邦衛、長池 一博
（三菱化成）

P-45 Micrococcus luteus 突然変異株による畜水産食品中の残留抗生物質検出
系の開発：
◇金西 信次、神保 勝彦、橋本 常生、金城 康人、渡部 真
（都立衛研、都立アイソトープ研）

P-46 変異原活性の再現性に及ぼす諸要因の検討：
◇遠藤 治、山内 恒幸、後藤 純雄、松下 秀鶴
（公衆衛生院・地域環境衛生）

P-47 umu 試験の高感度・簡易化に関する研究：
◇後藤 純雄、青木 祐子、遠藤 治、松下 秀鶴、片山 敬
（公衆衛生院・地域環境衛生、東京理大・薬）

P-48 alk' A-lac' Z 融合遺伝子を利用した変異原検出系の検討：
◇大塚 雅則、小椋 正造（化学品検査協会）

P-49 Rec-lac test の開発と評価〔I〕：
◇布柴 達男、西岡 一（同志社大・生化研）

P-50 ラット末梢血リンパ球の微量全血培養によるSCE分析法と系統比較：
◇白石 不二雄（国立公害研）

P-51 In vitro 染色体異常試験における pH の影響：
◇森田 健、渡辺 芳江、武田 憲三、奥村 和夫（新日本実業）

P-52 サイトカラシン B 脱核法を用いた in vitro 小核試験法：
—脱核に伴う小核の消失頻度—
◇仁藤 新治、小野 隆昭、近藤 靖、有行 史男、岡庭 梓
（田辺製薬）

P-53 経口投与時における小核出現率におよぼす絶食の影響：
◇鈴木 修三、直 弘、畠山 義朗（実験動物中央研）

P-54 小核試験における投与経路の差：
小核試験共同研究グループ（JEMS-MMS 分科会）
世話人 ◇須藤 鎮世（野村生研）

P-55 小核試験のための統計学的手法：
◇林 真、祖父尼 俊雄、石館 基（国立衛試）

P-56 マウス小核試験における系統差：
◇佐藤 精一、乾 直道（日本たばこ産業）

P-57 ENU によるマウススポットテスト—使用する雌マウスの系統差—：
マウススポットテスト共同研究グループ（JEMS-MMS 分科会）
世話人 ◇大島 稔彦（山ノ内製薬）

機 構

P-58 ^{32}P . ポストラベル法による DNA 付加体の分析法の検討：
斉藤 幸一、◇中川 聖子、小木曾 重文、中塚 巖、吉武 彬、
宮本 純之（住友化学）

P-59 Pyrenequinone 並びに Benzo[a]pyrenequinone による DNA 切断について：
古川 秀之、◇河井 一明、常盤 寛
（名城大・薬、福岡県衛生公害センター）

P-60 Nitropyrene 及び Nitrobenzo[a]pyrene による DNA 切断について：
◇古川 秀之、河井 一明、常盤 寛
（名城大・薬、福岡県衛生公害センター）

P-61 適応応答反応調節因子 (Ada 蛋白質) の直接メチル化による活性化：
◇高橋 和彦、作見 邦彦、中別府 雄作、関口 睦夫、川添 豊
（名古屋市大・薬、九大・医）

P-62 MNU 処理による雄マウス生殖細胞の DNA 損傷とその修復：
◇井上 雅雄、栗原 孝行、宮越 稔（金沢医大）

P-63 不飽和脂肪酸過酸化物による 8-ヒドロキシデオキシグアノシンの生成：
◇葛西 宏、新谷 知子、西村 暹（国立がんセンター）

P-64 フェカペンテンによる DNA 中の 8-ヒドロキシグアニンの生成：
◇塩谷 まみ、若林 敬二、佐藤 茂秋、山下 克美、長尾 美奈子、
杉村 隆（国立がんセンター）

P-65 過酸化水素共存下におけるメチルグリオキサールの変異原性と反応性について：
◇糠谷 東雄、岩見 禎彦、辻 邦郎、小菅 卓夫、若林 敬二、
長尾 美奈子、杉村 隆（静岡薬大、国立がんセンター）

○ P-66 N-OH-Trp-P-2 の銅フタロシアニンによる分解：
◇米沢 真弓、有元 佐賀恵、早津 彦哉（岡山大・薬）

P-67

ステビオールによる突然変異誘発機構について

—サザンブロット法による解析—

◇松井 道子、松井 恵子、能美 健彦、水沢 博、石館 基(国立衛試)

P-68

種々の長さにクローンされた muc 遺伝子の突然変異増強機能:

◇田ノ岡 宏、田中 和彦(国立がんセンター)

P-69

Erythropoiesis から見た小核試験(その3)

Indomethacinの小核誘発能に与える影響:

◇鈴木 勇司、林 和夫、益頭 尚典、清水 英佑(慈恵医大)

代 謝

P-70

ジアルキルヒドラジン類の突然変異原性の発現機構:

◇松下 洋久、小野 明美、武田 啓、望月 正隆(共立薬大)

P-71

Nitrobenzene 誘導体の変異原性発現機構:

—肝 Cytosol 中の活性増強因子の性状—

森田 修、高橋 直樹、◇鈴木 潤三、鈴木 静夫(東京理大・薬)

P-72

1-ニトロピレンオキシドの生成の種差:

西藤 佳子、木内 武美、◇大西 克成(徳島大・医)

P-73

(E)-および(Z)-アルカンジアゾヒドロキシドの変異原活性とアルキル化活性:

◇鶴川 さと子、飛田 千恵、望月 正隆(共立薬大)

P-74

抗ラットP-450を用いたショウジョウバエのP-450分子種の検索:

◇宮田 昌明、蒲谷 京子、井上 裕章、吉川 邦衛、永田 清、
加藤 隆一(三菱化成、慶応大・医)

修 飾

P-75

抗突然変異物質バニリンのDNA組換修復に対する作用:

◇渡辺 三恵、太田 敏博、白須 泰彦(残留農薬研)

P-76

構造的染色体異常誘発に対するin vitroおよびin vivoにおけるバニリンの抑制作用:

井上 達生、◇今西 久子、佐々木 有、渡辺 三恵、太田 敏博、
白須 泰彦(残留農薬研)

P-77

SCEおよび構造的染色体異常誘発に対するタンニン酸の抑制作用:

◇佐々木 有、今西 久子、白須 泰彦(残留農薬研)

P-78

紫外線吸収剤およびmethyl sinapateの微生物、培養細胞における突然変異、SCE、染色体異常誘発増強作用:

◇下位 香代子、岡田 義秀、中村 好志、野呂 忠敬、富田 勲、
佐々木 有、今西 久子、白須 泰彦(静岡薬大、残留農薬研)

P-79

カドミウムによる染色体異常誘発に対する過酸化水素前処理の影響:

◇越智 崇文(帝京大・薬)

P-80

カテコールアミン類の染色体異常誘発作用に対するアスコルビン酸の影響:

◇岩脇 浩美、伊藤 正樹、小木曾 重文、吉武 彬(住友化学)

P-81

Drosophila wing spot test系でのビタミン類の変異原修飾作用:

古川 秀之、河井 一明、◇高木 優子、井上 達生、白須 泰彦
(名城大・薬、残留農薬研)

P-82

化学変異原のSOS反応誘導機能に対する尿の修飾作用:

◇中村 清一、沖 岩四郎、杉本 寛治(大阪府立公衆衛生研)

口演 (第二ホール)

10月27日 午前の部(9:30~12:00)

◇は発表者

検 出

座長 大西 克成

- | | | |
|----------|-------|--|
| 0 - 1 | 9:30 | 河川水の変異原活性の測定:
◇阪本 博、早津 聡子、早津 彦哉
(岡山市水道局、岡山大・薬) |
| 0 - 2 | 9:42 | 大気中粒子状物質の変異原性(第1報):
◇真鍋 芳樹、朝倉 正澄、後藤 敦、実成 文彦、中島 泰知
(香川医大) |
| 0 - 3 | 9:54 | 自動車排出ガス中の変異原物質について:
◇佐々木 裕子、大山 謙一、遠藤 立一、河原 浩、
泉川 碩雄(東京都環境科学研) |
| 座長 白須 泰彦 | | |
| 0 - 4 | 10:08 | 変異原性物質の極微弱発光とその性質について:
◇長田 和実、木村 修一(東北大・農) |
| 0 - 5 | 10:20 | アクリルアミド:形態転換、染色体異常、DNA 傷害の誘発:
◇津田 弘久、清水 千瑛子、武富 真子、長谷川 真樹子、
浜田 淳、宮永 久美子、乾 直道(日本たばこ産業) |
| 0 - 6 | 10:32 | 化学変異原の継代的影響—マウス催奇形変異:
◇野村 大成、木田 誠子、村上 佳子、岡本 百代、後藤 博子、
中島 裕夫(阪大・医、佐保女子短大、摂南大) |
| 0 - 7 | 10:44 | メチル化剤高感受性 Sd-E.coli B (TC) 菌の症状と応用:
◇下平 富子(国立衛試) |

P-83 umu-lac 融合遺伝子を用いた変異原検出系〔VII〕
—クルクミンによるSOS 反応抑制作用—:
◇小田 美光、中村 清一、沖 岩四郎(大阪府立公衆衛生研)

P-84 たばこ煙変異原物質の吸着除去材に関する研究:
西川 琢人、◇金田 斉、楠 慎一郎(アドバンス)

P-85 N-ニトロソ化合物の直接的な変異原性を抑制する因子の検討:
◇武田 啓、小泉 慶子、望月 正隆(共立薬大)

P-86 金属化合物の抗変異原性〔II〕セレン化合物:
◇佐藤 まゆみ、布柴 達男、西岡 一(同志社大・生化研)

P-87 磁場の変異原性に与える影響:
◇広田 秀美、鈴木 勇司、清水 英佑(慈恵医大)

P-88 中国産中草薬の抗変異原性:
◇孟 正木、坂井 至通、小瀬 洋喜、佐藤 孝彦、永瀬 久光、
鬼頭 英明、松田 浩明、佐藤 元泰、水野 瑞夫
(中国薬大、岐阜県衛研、岐阜薬大)

P-89 *Salmonella typhimurium* SD 100 による各種野菜の抗変異原性の検索:
◇江幡 淳子、古御門 礼子、丸川 澄子
(大阪市大・生活科学、福井大・教育)

P-90 ナス (*Solanum melongena* L.) 抽出物の抗変異原性:
◇川崎 祐子、玉置 日出夫、布柴 達男、西岡 一
(同志社女子大・家政、同志社大・生化研)

P-91 抗ガン剤の抗変異原性:
布柴 達男、佐藤 まゆみ、◇西岡 一(同志社大・生化研)

座長 長尾美奈子

- 0-8 10:58 ショウジョウバエを用いた近紫外光の変異原性検出とソラレンの影響：
◇根岸 友恵、早津 彦哉（岡山大・薬）
- 0-9 11:10 コーヒー中のヘテロサイクリックアミン様変異原：
◇高橋 伸也、加藤 哲太、菊川 清見（東京薬大）
- 0-10 11:22 加熱調理したタラに含まれる変異原：
◇Xue-ming Zhang、若林 敬二、Zhi-cheng Lui、
長尾 美奈子、杉村 隆
（国立がんセンター、Harbin Medical University）
- 0-11 11:34 ブルーゼジンによる加熱食品中の変異原物質の抽出
◇小原 淑子、早津 聡子、斉藤 寛、御船 正樹、田中 善正、
村岡 知子、早津 彦哉（岡山大・薬、山陽学園短大）

10月27日 午後の部（13:00～15:00）

検 出

座長 菊池 康基

- 0-12 13:00 X線およびトリチウムβ線によるマウス骨髄小核の誘発：
◇滝沢 行雄、陳 徳清、蜂谷 紀之（秋田大・医）
- 0-13 13:12 ラット肝細胞DNA修復におけるアニリン誘導体の遺伝毒性：
◇吉見 直己、岩田 仁、田中 卓二、森 秀樹、清水 英佑
（岐阜大・医、慈恵医大）
- 0-14 13:24 経気道、長期、低濃度曝露の影響—マウスでの発癌：
野村 大成、◇本行 忠志、福島 久雄、林 晃正、小西 裕之
黒川 信夫、伊佐 幸雄（阪大・医、阪大・歯）

試 験 法

座長 黒田 行昭

- 0-15 13:38 線虫*C.elegans*の産子数等を指標とした発癌プロモーター検出系の検討：
◇栗原 敬子、倉科 周介、田伏 洋、三輪 錠司、神沼 二真
（東京都臨床医学総合研、日本電気）
- 0-16 13:50 Micronucleus test by flow cytometry: application to mouse peripheral blood :
◇Norppa H., M. Hayashi, T. Sofuni, Y. Kodama and
M. Ishidate, Jr. (Division of Mutagenesis and
Division of Toxicology, National Institute of
Hygienic Sciences)
- 0-17 14:02 新しい交配方法によるマウススポットテスト：
◇土川 清（国立遺伝研）

座長 早津 彦哉

- 0-18 14:16 アルカリ溶出法によるラット胃粘膜DNA損傷の検出：
◇降旗 千恵、佐藤 裕子、松島 泰次郎（東大・医科研）
- 0-19 14:28 ショウジョウバエの組換え能欠損二重変異株 *mei-9^a mei-41^{D5}* を用いる *in vivo* DNA修復テストの特徴：
◇藤川 和男、坂本 豊、菊池 康基（武田薬品）
- 0-20 14:40 ショウジョウバエにおけるDDTの殺虫作用と変異原性：
◇井上 裕章、梁 治子、藤川 和男（阪大・医、武田薬品）

機 構

- 座長 佐々木正夫
- 0-21 9:00 活性酸素発生系における染色体異常の誘発—ソフトX線による検討:
◇祖父尼 俊雄、沢田 稔、畑中 みどり、石館 基
(国立衛試)
- 0-22 9:12 放射線感受性変異体 wasted マウスにおけるガンマ線誘発染色体異常の組織特異性:
◇手塚 英夫、井上 正(国立遺伝研)
- 0-23 9:24 双生児末梢リンパ球における染色体傷害誘発感受性について—遺伝要因と環境要因の評価:
◇森本 兼曩、新川 加奈子、高野 幸路(東大・医)
- 座長 加藤 隆一
- 0-24 9:38 クロスリンク剤によるDNA鎖切断:
◇矢嶋 信浩、保地 真一、岸 健彦、川西 悟生(雪印乳業)
- 0-25 9:50 シャトルベクター系によるマウス培養細胞の自然突然変異解析:
◇池畑 広伸、加藤 武司(京大・理、阪大・医)
- 0-26 10:02 ヘテロサイクリックアミン代謝中間体とDNAの反応:
◇山下 克美、梅本 淳、Spiros Grivas、加藤 俊二、
若林 敬二、佐藤 茂秋、杉村 隆(国立がんセンター)

代 謝

- 座長 田ノ岡 宏
- 0-27 10:16 ニトロアレン類の代謝活性化に關与する Salmonella 遺伝子のクローニング—構造解析とその利用—:
◇渡辺 雅彦、能美 健彦、石館 基(国立衛試)
- 0-28 10:28 Intrinsic Mutagenicity toward Salmonella of O-Sulfonates of Carcinogenic Hydroxymethyl-substituted Polycyclic Arenes and N-Hydroxy-2-acetylaminofluorene as Reactive Metabolites:
◇渡辺 烈、奥田 晴宏、小倉 健一郎、杉山 明男
(東京薬大)
- 0-29 10:40 加熱変異・癌原物質、MeIQxの肝における活性化機構:
山添 康、◇Medhat Abu-Zeid、真部 俊一、外山 誠司、
加藤 隆一(慶応大・医)
- 0-30 10:52 ミオグロビン、ペルオキシダーゼなどによる変異原の活性化と分解:
◇有元 佐賀恵、早津 彦哉(岡山大・薬)

修 飾

- 座長 石館 基
- 0-31 11:06 スーパーオキシドディスムターゼの Trp-P-2 活性化体の変異原性に対する影響:
◇平本 一幸、難波 哲人、根岸 和雄、早津 彦哉
(岡山大・薬)
- 0-32 11:18 芳香族アミンおよびアミドに及ぼす Quercetinの変異原性修飾効果:
◇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)

特別講演・総会・受賞講演

0-33 11:30 培養細胞に対する化学変異原の複合効果〔Ⅳ〕Vanillin による変異原修飾効果:

◇玉井 功一、手塚 英夫、賀田 恒夫、黒田 行昭
(国立遺伝研)

0-34 11:42 哺乳動物細胞に対するビタミンAおよびEの変異原修飾作用とその機作:

◇黒田 行昭(国立遺伝研)

特別講演

日時 : 10月27日 15:00~16:00

会場 : 第二ホール

司会 西岡 一

「活性酸素の生成と消去」

京都大学食糧科学研究所

浅田 浩二 先生

総会

日時 : 10月28日 13:00~13:30

会場 : 第二ホール

受賞講演

日時 : 10月28日 13:30~14:00

会場 : 第二ホール

司会 松島 泰次郎

日本環境変異原学会奨励賞受賞講演

「ショウジョウバエによる環境変異原検出系に関する研究」

梁 治子 (阪大・医)

藤川 和男 (武田薬品)

シンポジウム

日時： 10月28日 15:35～17:35

会場： 第二ホール

司会 武部 啓

「突然変異の機構—環境変異原の見地から」

- S - 1 15:35 序論 — ヒトにおける突然変異と発がん
武部 啓(京大・医)
(討論 5分)
- S - 2 15:55 ヒト細胞の突然変異
巽 紘一(京大・医)
(討論 5分)
- S - 3 16:15 SOS反応と突然変異
品川日出夫(阪大・微研)
(討論 5分)
- S - 4 16:35 適応反応と突然変異
関口 睦夫(九大・医)
(討論 5分)
- S - 5 16:55 酸素ラジカルによるDNA損傷と突然変異
葛西 宏(国立がんセンター)
(討論 5分)
- S - 6 17:15 突然変異 — DNAから個体まで
近藤 宗平(近大・原子力研)
(討論 5分)

示 説

掲示期間(全員)

10月27日 12:00 ~ 28日 15:30

質疑時間

奇数番号 10月27日 16:00 ~ 17:30

偶数番号 10月28日 14:00 ~ 15:30

P-1 ~ P-91.....27~117ページ

P-2

環境水および土壌中におけるニトロピレンの安定性

○西藤佳子, 木内武美, 大西克成 (徳島大, 医, 細菌)

ニトロピレン (NP) 類は環境中に広く分布している高変異原性物質であり, 大気中に存在する場合には光分解を受けるという報告がある. 今回は, NP類が水および土壌中に移行した場合どの程度安定に存在するのかを明らかにするため, 1-NP および1,6-ジニトロピレン(1,6-diNP)を4種の環境水および4種の土壌と混合し, 変異原性の変化を指標として安定性を検討した.

水は, 海水, 河川水(吉野川, 田宮川), 溜池の水を, 土壌の場合には, 赤土, 黒土, 砂土, ヘドロから調製した菌浮遊液を用いた. これらに等量のペプトン水を加え ^3H 1-NP 3, 1, 0.2 $\mu\text{g/ml}$, ^3H 1,6-diNP 10 ng/ml を加え 30°C で暗所で0~7日保温した. オートクレーブした水, 菌浮遊液についても同様の操作を行った. 水についてはペプトン水を加えない場合も行い, 30°C , 4°C 又は, オートクレーブして 30°C で0~30日保温した. 保温後, ベンゼン:エタノール(4:1)で抽出し, 抽出物のTA98株, (-)S9での変異原性, 抽出 ^3H 量の測定および代謝産物の分析を行った.

水および土壌について, ペプトン水を加えた場合にはNP類の変異原性は速やかに減少し, 1~5日後には10%以下となったが, オートクレーブしたものでは変化がなかった. 抽出 ^3H 量は1,6-diNPの場合にのみ減少した. 田宮川の水および, ヘドロについて1-NPの代謝産物をHPLCで分析したところ, 1-アミノピレンのみが検出された. ペプトン水無添加で保温した場合には, 1-NP 3, 1, 0.2 $\mu\text{g/ml}$ の変異原性はほとんど変化しなかった. 1,6-diNP 10 ng/ml の変異原性は 30°C で3日後に20%以下まで減少した. 4°C でも変異原性は減少したが7~10日目に再上昇した.

以上の結果から, 環境水および土壌中に移行したNP類は微生物により代謝分解されること, ペプトン水無添加の水中での代謝速度は非常に遅く, 特にNP濃度が高いと代謝されにくいことが明らかになった.

P-3

ポリウレタンフォーム燃焼物の変異原性について

○平山晃久, 小野真由美, 渡辺徹志, 福井昭三(京都薬大)

火災に際して化学繊維から発生するガスや灰の有害性が問われて久しい. 今回我々は, ポリウレタンフォームを取り上げ, その燃焼に伴い発生するガスの変異原性について検討した.

ポリウレタンフォーム7.5gを石英管につめ, 空気を0.2 /minの割合で導通しながら2時間ガスバーナーで加熱燃焼させた. 発生したガスを H_2O および10% HCl で捕集し, 各捕集液をエーテルで, さらに10% HCl 捕集液は NaOH アルカリ性下エーテル抽出し, 各エーテル抽出液は濃縮して燃焼生成物を得た. 変異原性試験は*S. typhimurium* TA98を用い, S9存在下Ames法により行った. アミノ化合物の測定はジアゾ化法によった.

燃焼生成物の酸性・中性抽出物の変異原活性がなく, 塩基性抽出物は447rev./10 μg の変異原活性を示した. これを $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}=19:1$ を展開溶媒として, SiO_2 カラムクロマトグラフィーを行いFr.1 - Fr.6に分画した. 各画分について*S. typhimurium* TA98を用い+S9(10%)で変異原性試験を行ったところ, Fr.4に617rev./5 μg の変異原活性が認められた.

更にこの画分を精製し, H_2O から再結晶して $\text{mp}200.5 - 202^\circ\text{C}$ の針状結晶(936rev./5 μg)を得た. 現在この化合物の構造について検討している.

またポリウレタンフォームのトルエン抽出物および燃焼生成物中のアミノ化合物を測定したところ, ポリウレタンフォーム(7.5g)の燃焼生成物ではdiaminotolueneとして92.44 mgのアミノ化合物を検出し, その量はもとのトルエン抽出物の約130倍であり, アミノ化合物の増加が変異原性の増強に關与する事が示唆された.

P-4

2,4-diaminotoluene酸化生成物及びphenazine誘導体の
変異原性について

○渡辺徹志、平山晃久、小野真由美、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し、その変異原性がトルエン抽出物中の2,4-及び2,6-diaminotoluene (DAT)の量と変異原性からでは説明できないこと、また2,4-DATは過酸化水素処理により変異原性が著しく上昇し、その主生成物が2,7-diamino-3,8-dimethylphenazine (A)であり、*S.typhimurium* TA98に対してS9mix存在下で強い変異原性を示すことを報告してきた。今回、他の単離同定した2,4-DAT酸化生成物の変異原性について報告する。

2,4-DATはアンモニアアルカリ性室温下で H_2O_2 処理した。反応2日後、折出した沈澱を分離し、反応液は酢酸エチルで抽出した。変異原性の高かった沈澱を SiO_2 カラムクロマトグラフィーによりFr.1-5に分画した。各画分について、PCBで誘導したラット肝より調製したS9mix存在及び非存在下TA98株を用いて変異原性試験を行った。

Fr.1から黄色針状結晶(B)及び赤色結晶(C)を単離し、 1H -及び ^{13}C -NMR, HRMS, IR等の結果、化合物(B),(C)の構造をそれぞれ3,3'-diamino-4,4'-dimethylazoxybenzene及び1,8-diamino-2,7-dimethylphenazineであると推定し、(B)については別途合成した標品と比較することにより構造決定した。また標品を用いGC-MSによりFr.1に2-amino-4-nitrotoluene (D), 2-nitro-4-aminotoluene (E)及び3,3'-diamino-4,4'-dimethylazobenzene (F)を確認した。変異原性試験の結果、A: 1532 rev., B: 955 rev., C: 203 rev., F: 1253 rev./ μg であった。

P-5

ニッケルヒューム吸入暴露ラットの骨髄細胞及び
末梢血液リンパ球の染色体分析

○奥 貴美子、芹田富美雄、鈴木康友（労働省産医研）

昨年の本学会においてクロムヒューム吸入暴露ラットの骨髄細胞及び末梢血液リンパ球の染色体所見を検討し、末梢血液リンパ球の染色体異常出現頻度、SCE頻度に増加の傾向のあることを報告した。今回は、同じくプラズマフレーム金属溶射装置を用いて金属ニッケルから発生させたヒュームに暴露したラットの骨髄細胞及び末梢血液リンパ球の染色体所見について検討した。

ニッケルヒュームは1日5時間、週5日の全身暴露で1週間暴露群では、 8.07 ± 0.424 mg/ m^3 、2ヶ月暴露群では 0.51 ± 0.152 mg/ m^3 の濃度で暴露し、対照群は空気のみ暴露した。1週間群では、暴露後20時間、3日、7日、1月後に、2ヶ月群では、20時間、7日、1月後に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検討を行った。実験に用いた動物は何れも暴露開始時に8週令の雄SDラットで、動物数は各観察時期とも1群5頭である。

骨髄細胞の染色体構造異常出現頻度の平均値は、各観察時期において両暴露群共に対照群との間に差が認められなかった。末梢血液リンパ球の染色体構造異常出現頻度も、暴露後の各時期の平均値において両暴露群共に対照群との間に差はなく、染色体異常の種類も暴露群、対照群共に染色分体及び染色体ギャップを主体としたものであった。末梢血液リンパ球、骨髄細胞共染色体数には大きな変化はなかった。末梢血液リンパ球のSCE頻度の暴露後の各時期の平均値は両暴露群とも対照群との間に差が認められなかった。個体の示すSCE頻度の分布も両暴露群と対照群との間に差が認められなかった。尚、吸入暴露に用いたニッケルヒュームはin vitroでCHL細胞に対して、染色体異常誘起性、SCE誘発性を示したが、その強さはクロムヒュームより弱かった。

P-6

Micro-forward mutation法を用いた室内空気の変異原性

○高木敬彦*、後藤純雄**、杉田佐和子*、松下秀鶴**、村田元秀*

(* 麻布大学, **国立公衆衛生院)

目的)我々は、大部分を室内で過ごしていることから、室内空気の変異原性を測定することは、これら変異原性物質の暴露実態を調べる上で重要である。そこで本研究では、多量採取の困難な室内空気浮遊粒子の変異原性の測定にmicro-forward mutation法を適用するため、この方法の検出感度、再現性を調べ、これをもとに、若干の室内空気浮遊粒子の変異原性測定を試みた。

方法)検出感度及び再現性の試験に用いた大気浮遊粉じんは、ハイポリウムエアサンプラー(約1200ℓ/min)を用いて24時間石英繊維フィルターに捕集した。室内空気浮遊粒子は低流量のエアサンプラー(20ℓ/min)を用いて24時間、47mmφの石英繊維フィルターに捕集した。捕集された粒子状物質をベンゼン-エタノール(3:1v/v)を溶媒とする超音波抽出法で抽出し、その抽出物を変異原性試験に供した。Micro-forward mutationは、サルモネラ菌TM677株を用いるSkopekらの方法を改良したものである。

結果)得られた結果の概要は次の通りである。1)本法でコントロールの2倍のresponseを得るのに必要な溶媒抽出物量はAmes法のそれの10~18%とかなり小さい値を示す。2)本法の再現性は変動係数約12%と比較的良好であることも認められた。3)室内空気(通常)の変異原性測定に必要な空気量は約30m³であること。4)測定した室内空気試料はすべてS-9mix添加の有無にかかわらず変異原性を示す。5)喫煙の行なわれている室から採取した試料の変異原性は外気のそれより高いことなどが認められた。

P-7

低イオウ燃料によるディーゼル排出物の変異原性の低下

○松下秀鶴、後藤純雄、田辺潔、遠藤治、山内恒幸、郭錦堂、岩井和郎*

(国立公衆衛生院・地域環境衛生学部、*助結核予防会結核研究所)

(目的)近年ディーゼル車の増加に伴い、ディーゼル排出物の生体影響が懸念されている。ディーゼル排出物はS9mixなしで強力な変異原性を示し、これは主にニトロアレン類によるものとされている。ニトロアレンは多環芳香族炭化水素がNO₂との不均一反応によりニトロ化されて生成し、この反応に対して酸やSO₂などが影響を及ぼすことが明らかにされている。本研究では、通常用いられている燃料よりもイオウ分の少ない低イオウ燃料を用いることによつて、ディーゼル排出物の変異原性がどのような影響を受けるか検討した。

(方法)被験試料は、助結核予防会結核研究所内に設置されたディーゼル排ガス動物暴露施設の希釈トンネル排ガスをテフロンコーテッドガラス繊維フィルター上にハイポリウムサンプラーを用いて捕集し、ベンゼン-エタノール(3:1, v/v)によるソックスレ抽出により得た。変異原性試験はサルモネラ TA100およびTA98菌株を用い、プレインキュベーション法で行った。

(結果)被験試料はいずれも、菌株・S9mixの有無にかかわらず、明らかな変異原性を示した。また、変異原性の強さを単位排ガス当たりの復帰変異コロニー数で比較すると、低イオウ燃料の試料は常用燃料のおよそ1/2(TA100+S9, TA100-S9)~1/3(TA98+S9, TA98-S9)となり、低イオウ燃料を使用することにより、ディーゼル排出物の変異原性を低下しうることが示唆された。

P-8

プラスチック燃焼生成物の変異原性

2. 変異原性物質の同定

○佐藤 正敏¹、田苗 裕幸¹、布柴 達男²、西岡 一²
 (ユニチカ環境技術センター¹、同志社大 生化研²)

各種プラスチックの中でポリ塩化ビニル(PVC)を主成分とする塩化ビニル樹脂の燃焼生成物の中性画分がTA98に対し強い変異原性を示すことを第14回本学会で報告した。今回は該変異原物質の分離同定を試みたので報告する。

塩化ビニル樹脂をブンゼンバーナー直火にて燃焼させ、その際生じる煤煙中の浮遊粒子状物質をハイボリュームエアサンプラーを用いてガラス繊維ろ紙(GB100R)に捕集した。捕集した試料をアセトンにて超音波抽出し、溶媒を減圧留去して得られた抽出物を検体とした。以後TA98に対する変異原活性を指標として、液液分配、薄層クロマトグラフィーを繰り返すことにより高活性画分の精製を試みた。高活性画分についてHPLC(カラム:cosmosil 5C₁₈、4.6×150mm、移動相:アセトニトリル/水 70/30)にて分析を行なった結果、1-nitropyrene、Benz(a)-pyreneは検出されず、この画分の変異原活性は他の物質に由来する可能性が示唆された。さらにこの画分をキャピラリーGC-MSにて分析を行ない、検出されたピークにつき、コンピューターにストアされているライブラリー(38,791物質)にてサーチした結果、Benz(c)cinnoline、7H-Benz(de)anthracene-7-one、フタル酸エステル類に該当するマススペクトルが確認された。他にもマススペクトルの純度が低い物質が存在するので、さらにクロマトグラフを重ねて同定を検討中である。

P-9

煙草タールの硝酸、亜硝酸処理による変異原の生成(続報)

○世良暢之、堀川和美、常盤寛(福岡県衛生公害センター)

ある種の食品(特に野菜類)及び唾液中には硝酸及び亜硝酸塩が含まれている。したがって煙草喫煙者は口くう或は胃内で煙草タール状物質がニトロ化又はニトロソ化され変異原を生成する可能性がある。そこで煙草タール状物質を硝酸、亜硝酸処理又はNO₂に暴露し、生成された変異原物質の同定を試みた。

フィルター上に捕集した煙草タール状物質の硝酸処理(10mM-3M)は37℃ 30分間行い、亜硝酸処理(10mM-3M)は37℃、1時間、pH3で遮光下、亜硝酸ナトリウムと反応させ、スルファミン酸ナトリウムで反応を停止させた。また、NO₂暴露(10ppM)は30℃、12時間行った。それぞれの煙草タール状物質はSalmonella typhimurium TA98、S9mix存在、非存在下で変異原性を調べた。

その結果、ある種の煙草タール状物質(NO₂ 8-46ppM; NO₂, 40-186ppM)は、硝酸、亜硝酸処理又はNO₂暴露によりS9mix非存在下で変異原性が上昇した。特に硝酸処理をした煙草タール状物質では著名な上昇が認められ、この活性部分を液-液分配、シリカゲルカラムクロマトグラフィー、HPLCで分画し、変異原性を調べたところ、2つの活性ピークが認められ、現在これらの活性画分について分析中である。

ESC + 50min HNO₃ 60P
 Tar mg 20/100 1000 (11.5)
 30 200
 ELV 10.5 mg/cigarette
 1-PP 10.3 mg
 1,3-PP 0.38
 2-PP 0.6
 10:1
 8:2
 99/100
 UPS

P-10

ニトロアレーンの小核誘発能

○堀川和美、乙藤武志、世良暢之、常盤 寛
(福岡衛生公害センター)

ニトロアレーンは、微生物や培養細胞において高い変異原性を示すことが分かっている。しかし、ニトロアレーンのマウス小核誘発能に関する知見は乏しい。今回、一部のニトロアレーンについて小核テストを実施したのでその結果を報告する。

小核テストは、ddY系雄マウスにオリーブ油またはジメチルスルホキシドに溶解したニトロアレーンを腹腔内に1回投与し、24時間後に屠殺し骨髄細胞をとりだし、スメアを作成した。染色方法は、アクリジンオレンジ蛍光染色及びメイグランド・ギムザ染色を行った。マウス1個体につき多染性赤血球(PCE)1000個当りの小核をもつ多染性赤血球(MNPCE)の出現頻度を求めた。陽性対照にはマイトマイシンC(MMC)及び4-NQOを使用した。その結果、3,7-, 3,9-ジニトロフルオランテンによる小核誘発頻度は10-160 mg/kg接種量でそれぞれ0.46-0.84%、0.46-0.56%で、対照群(オリーブ油)との間に明かな有意差($p < 0.01$)があり、この誘発頻度は量・反応関係が認められた。一方、ジニトロピレンも同様の小核誘発能を示したが、1-ニトロピレン、2-ニトロフルオレン、2,7-ジニトロフルオレン、6-ニトロクリセンは10-160mg/kg投与量では小核の誘発はみられなかった。したがって、ニトロアレーンのマウス小核誘発能はMMC 3mg/kg投与で4.1%、4-NQO 50mg/kg投与で6.06%に比較し極めて低いと考えられる。

P-11

製紙工場排水の変異原性と魚類に対する腫瘍誘発能

○木苗直秀, 山下みつ子, 大長典子, 富田 勲
(静岡薬大・衛生化学), 木村郁夫 (愛知県がんセンター研・ウイルス), 中村元二, 熊井英水 (近大・水研)

最近、製紙およびパルプ工場排水からいくつかの変異原が分離、同定されている。それらのうちの多くが分子内に塩素原子を有する化合物であるが、工場排水を通して自然界へ放出された場合の影響については十分に明らかにされていない。我々は製紙・パルプ工場排水に含まれる変異原の検索と水棲生物に対する影響を検討する目的で実験を行った。まず、パルプから製紙製造に至る各行程排水および一次処理水、二次処理水(放流水)を採取して理化学的分析を行った。次いで各排水をAmberlite XAD-2樹脂を充填したカラムに通して含有する有機化合物を捕捉したのち、エーテルで溶出した。エーテル画分について*S. typhimurium* TA98およびTA100を用いて±S9 mixで変異原性を検定した。その結果、漂白行程排水がTA100(-S9 mix)で最も高い変異活性を示し、さらに一次、二次処理水にも変異原性を認めた。そこで未晒パルプおよびリグニンを実験室内で塩素処理し、生成する変異原を分離、精製したのち、GC-MS分析により同定して比較検討した。両処理水には4種のクロルアセトン類とともに、2,4,4,4-tetrachloro-2-butenal(16,000 rev/ μ mole)が存在することを確認した。クロルアセトン類は上記行程排水中にも存在したが、tetrachloro-butenalについては現在検討中である。また、変異原性を示した漂白行程排水、一次、二次処理水を用いて2ヶ月令のゴンズイ(*Plotosus anguillaris*)への暴露実験を行った。3種の実験群はいずれも対照群と比較してメラノシスの発生率が有意に高かった。

P-12

東京都における水道水の変異原性

○大月孝之、木藤耕一、中西純子(東京大学、都市工学科)

【目的】水道水に変異原性が認められることが、報告されて久しいが、日本でのデータはまだ少ない。東京都の原水、浄水、給水について調査を行ったので報告する。

【方法】調査対象として東京都の砧、三園、金町、東村山の各浄水場を選んだ。砧は緩速ろ過処理、他は急速ろ過処理を行っている。水系は砧が多摩川、三園が利根川、東村山が多摩川と利根川、金町が江戸川である。10リットルのサンプルをpH5にして無極性樹脂(amberliteのXAD-4もしくは三菱化成工業のCSP800)に吸着させた後、DMSOで脱離し5ccの濃縮サンプルを得た。回収率は全有機ハロゲン(TOX)値を基に評価した。樹脂の量は5cc、吸着速度は500cc/hour、脱離速度は5cc/hourとした。変異原性の評価はAmes法により、TA100を用いた。S9による代謝活性化は行っていない。

【結果と考察】各浄水場での変異数をリットル当りに換算したものを示す。

採水日	サンプル名	変異原性	回収率 (net rev./l) (%)	採水日	サンプル名	変異原性	回収率 (net rev./l) (%)
861105	金町原水	n.d.		870202	三園浄水	224	15
870128	金町原水	toxic		870209	三園浄水	293	13
871205	金町浄水	toxic	16	870330	三園浄水	toxic	15
870313	金町浄水	161	19	870123	三園給水	1098	17
870123	金町給水	toxic	14	870526	三園給水	173	33
861105	東村山原水	n.d.		870709	三園給水	295	27
861105	東村山浄水	185	27	861218	砧浄水	134	25
870116	東村山浄水	250	23	870305	砧浄水	199	33
861218	三園浄水	249	16	870305	砧給水	121	18

サンプルにより高い活性をみるものがあった。緩速ろ過処理の砧の値が、他に比べ低い。金町がその毒性により定量出来なかったことが目につく。変異原性とTOX値・塩素添加量との間に相関がみられた。

P-13

ヒト糞便中ステロイドの Maus 大腸上皮に対する核毒性

○鈴木邦夫¹⁾、光岡知足^{1,2)}
(¹理化研, ²東大農)

私どもは第15回本学会で Nuclear aberration assay (核異常試験)が大腸がん原物質の in vivo 短期検索法として有効であることを報告した。大腸がんの発生は脂質の摂取量と相関することから、今回は、ヒト糞便中に存在するステロイド化合物について核異常試験を行った。

被検物質は中性ステロイドとして cholesterol, dihydrocholesterol, coprostanol, coprostanone, 5 α -cholestan-3-one, 4-cholesten-3-one, cholesterol-5 α , 6 α -epoxide の他、数種の植物由来ステロールを用いた。酸性ステロイドとしては cholic acid, chenodeoxycholic acid, deoxycholic acid, lithocholic acid の他、数種のケト胆汁酸を用いた。ステロイドはそれぞれCDF1雄マウスに直腸内投与し、24時間後に直腸を摘出して組織標本を作成し、鏡検によって大腸腺窩に出現する小核、核融解など異常核を計数した。

結果として、中性ステロイドの 5 α -cholestan-3-one および 4-cholesten-3-one が大腸上皮に核毒性を示し、用量反応性が観察された。酸性ステロイドについては核毒性は全く認められなかったが、二次胆汁酸の deoxycholic acid に強い mitogen 活性が認められた。

以上の結果は、5 α -cholestan-3-one および 4-cholesten-3-one はヒトの大腸がんのイニシエーターである可能性があり、一方、二次胆汁酸は補発がん作用を有することが考えられる。

P-14

H₂O₂ と Histidine から形成される adduct の染色体異常誘発機構

○大屋幸子（神奈川県衛生短大・病理），山本興太郎（東京医歯大・難治研・細胞遺伝）

我々はこれまでに，H₂O₂の染色体型異常誘発能が Histidine (His) との二重処理により相乗的に増強されることを報告した。H₂O₂ と His は 室温溶液中で容易に結合し，His-H₂O₂ adduct として結晶化することが示されている(Dirscherl & Mosebach, 1954)。今回，His-H₂O₂ adduct を作製し，その処理による clastogenic 作用を観察したので報告する。

方法： Dirscherl & Mosebach の方法に従い adduct 結晶（角柱状結晶，His 結晶とは異なる）を作製し，0.9% NaCl液に種々の濃度で溶解した。これをヒト胎児線維芽細胞に5-15分間処理し，27時間培養後標本を作製して，染色体異常出現頻度（1細胞当りの2動原体染色体および環状染色体，Dic + Ring/cell）を調べた。また種々の活性酸素捕捉剤を添加し，本誘発に free radicals が関与しているかについても検討した。

結果： 1) His-H₂O₂ adduct による Dic + Ring/cell の出現頻度は，2.5-20 μg/ml の範囲内で 処理濃度に依存して増加し，15 μg/mlのとき最高頻度 1.25 を得た。

2) adduct 処理の結果は，両薬剤二重処理の場合と，染色体異常出現 mode（有効濃度と最高頻度値）がほぼ一致した。 3) adduct処理，二重処理どちらの場合も，異常形成が Catalase により完全に，•OH 捕捉剤 および ¹O₂捕捉剤によりかなり抑制された。

考察： 以上の結果，His-H₂O₂ adduct が H₂O₂ を上回る clastogenic 作用を示すことが見出された。この結果は，従来の 両薬剤二重処理による相乗的誘発効果の成因に，この adduct の形成が関与したことを示唆する。

P-15

亜硝酸による Amino-imidazoazaarenes から直接型変異原の生成

○笹川千晶，滝本めぐみ，松島泰次郎（東大医科研，癌生物）

蛋白質性食品の加熱により生成する IQ，MeIQ_x などの変異原物質 Amino-imidazoazaarenes は微生物に対し S9 mix 存在下で変異原性を示す。これ等の変異原を酸性で亜硝酸処理すると S9 mix なしで変異原性を示す直接型変異原に変換した。

〔方法〕 IQ，MeIQ，MeIQ_x，4,8-DiMeIQ_x，PhIP の 1mM 水溶液に NaNO₂ 50 mM を加え，1N-HCl で pH を 3 に調整し，30° 3 時間振盪した後，1) 1N-NaOH で pH を 7 に中和する，2) NH₄SO₃NH₂ で亜硝酸を消費する，または 3) SEP-PAK (C₁₈ cartridges) に吸着，MeOH で溶出する。このいずれかの処理を行った試料を S9 mix 非添加で変異原性を調べた。また IQ を亜硝酸処理，SEP-PAK 吸着，μBondapak C₁₈/40% MeOH-K•phosphate buffer pH 7.4 の HPLC により反応物を分離・精製・同定を行った。

〔結果〕 これらの変異原は亜硝酸処理により S9 mix なしで TA 98，TA 100，*E. coli* WP2 uvrA に変異原性を示した。S9 mix 添加でもほぼ同程度の変異原性を示し，元の変異原の変異原性（亜硝酸無処理で S9 mix 添加）と同じ程度の強さであった。直接型変異原の生成は，亜硝酸濃度に依存し，50 mM 以上では約 80% 以上が変換した。

IQ を亜硝酸処理後 HPLC で精製した変異原は，UV，Mass，NMR で NH₂ 基が NO₂ 基に変った変異原と同定し，化学合成品と一致した。NO₂-IQ は TA 98 に 9.0 × 10⁵ / μg の変異原性を示した。

P-16

Acetaminophen と亜硝酸との反応によるdiazquinone型変異原の生成

○太田隆文, 亀山朋子, 織部博章, 滝谷昭司
(東京理科大・薬)

先に我々は風邪薬として繁用されているAcetaminophen (Paracetamol) をWHOのnitrosation testの条件下, 亜硝酸処理すると変異原性を示すことを見出し, この反応において2-nitro-4-acetaminophenol, 2,6-dinitro-4-acetaminophenolの生成を確認したものの, これらは変異原性を示さず, 変異原は未確認であった(日本環境変異原学会第16回大会). 今回は変異原を同定すべく更に検討した.

Acetaminophen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, 反応液を凍結乾燥し, 少量のHPLC溶媒に溶解, HPLCに付し(column, NOVA Pak C18; 溶媒, 5 or 20% acetonitrile/0.1% acetic acid), 各分画の変異原活性を測定した. その結果, 活性を示す分画に対応するUV吸収ピークは一つであり, これは分画前の活性の約70%を説明し得た. この分画のUV照射あるいはNaBH₄処理でピーク高は著減した. またNaBH₄処理によりAcetaminophenの生成がUVスペクトルおよびHPLCにより確認された. この他2-naphthol/NaOHによる呈色, Cuイオン共存下でのnitrosationではピーク対応化合物の生成が抑制されること, NMR測定等から, 変異原はdiazquinone構造を有するものと結論した.

Acetaminophenの一回投与量は約300 mgであることから, モデル胃条件下でのdiazquinone生成および変異原活性の有無を検討したが, 亜硝酸イオン濃度10, 50 ppm, pH 3, 37°C, 1-4時間の反応ではdiazquinone生成, 変異原活性のいずれも認められなかった.

P-17

調理食品の突然変異原性について VII

焼肉の変異原活性に及ぼす調理方法の影響

○久岡祥子, 藤井久美子, 大野佳美, 村岡知子
(山陽学園短大 食物栄養)

タンパク性食品である獣鳥肉類を加熱調理すると, ヘテロサイクリックアミンなどの変異原物質が生成するが, どのような調理方法をとったとき焼肉の変異原活性が高まるのかを, 鶏肉, 牛肉, 豚肉を用いて検討した.

活性物質の抽出には, 青綿吸着法を用い, 活性の測定はサルモネラ菌TA98(+S9)により行った.

変異原活性の生成は, 肉の種類, 調理方法, さらに使用する焼き油に影響されるという結果を得た. すなわち, 肉の種類としては, 鶏肉の変異原活性が牛肉, 豚肉に比べて高く, 調理方法では, 醤油を用いるくわ焼き, しょうが焼きが空焼き, ソテーに比べて高かった. さらに, 同じ焼き方であっても, 焼き油としてサラダ油を用いると抑制され, ラードを用いると増強される傾向にあった. そこで活性の高い鶏肉のくわ焼きに注目して, 焼き油として, サラダ油, ラードに加えて, オリーブ油, ごま油, 綿実油等を用いて調理し, 脂質が変異原活性の生成に及ぼす影響を比較検討した. その結果, まず, たれ(醤油, 砂糖, 酒)+焼き油の加熱では各油脂の間には明確な差はなく, そこに鶏肉が加わると焼き油の違いにより変異原活性に差ができることがわかった. その差は食用油脂の脂肪酸組成とくに不飽和脂肪酸含有量の違いによると推察される. そこで, 調理に使用する油脂が, その料理の変異原活性の消長にいかに関与するかについて検討した結果を報告する.

P-18

調理食品の突然変異原性について VIII

ショウジョウバエ翅毛スポットテストによる検索

○村岡知子 加藤真理 久岡祥子 根岸友恵※1 大下市子※2
(山陽学園短期大学 食物栄養、※1岡山大学 薬学部、※2大下学園女子短期大学)

調理食品中に生成する変異原活性がヒトへおよぼす危険性を検索する一つの手段としてショウジョウバエの体細胞突然変異を成虫翅に出現する翅毛の形状変化で観察する系を用いて、Ames法で測定した活性との比較検討を試みた。

日常一般に摂取される調理食品一食分中のフレームシフト型変異原活性を、青綿吸着法で抽出し、サルモネラTA98で測定した時明らかに活性を示したたんぱく系食品の加熱物について、青綿を用いて抽出した粗活性分画をハエ幼虫に食下させ、成虫の翅毛に表れる変異スポットを測定した。

焼きむすび抽出物では、有意の変異は認められなかったが、しょうゆ培焼物や焼肉の青綿抽出物では、この系を用いての変異原活性陽性の結果を示し、高等な動物において、調理食品のもつ変異原活性の消長を追跡するうえに応用し得る可能性が示唆された。

P-19

加熱羊肉中の変異原、前変異原の検索

○橋爪 崇, 辻沢 広, 小坂和生 (和歌山県衛公研センター), 木苗直秀, 小沢敬弘, 富田 勲 (静岡薬大・衛生化学)

我々はマーケットバスケット方式により13群に分類した日常食品に含まれる変異原を検索している。現在までに10群(魚介類), 11群(肉, 卵類)が, 他の食品群と比較してS. typhimuriumTA100(-S9 mix)に対して比較的高い変異活性を示すこと, また, 11群は亜硝酸処理によりその変異活性がさらに上昇することを報告した。

今回, 11群のうち最も変異活性の上昇が著しかった羊肉より変異原, 前変異原の分離を試みた。加熱羊肉中のメタノール抽出物をSephadex LH-20でメタノールを用いてゲルろ過し5画分(fr.1-5)を得た。

fr.1-3には主として直接変異原の存在が, fr.4-5には主として亜硝酸処理で変異原性を示す前変異原の存在が推定された。fr.1-3については2,4-ジニトロフェニルヒドラジンカラム処理による変異活性の変化, および0-フェニレンジアミン法により検討した結果, メチルグリオキサールを含む数種のカルボニル化合物が存在することを確認した。fr.4-5は薄層クロマト上でニンヒドリン陽性のスポットを生じ, TMS化, TFA化したのちGC分析した結果, L-トリプトファン, トリプタミン, 5-ヒドロキシトリプタミン, 5-ヒドロキシインドールを, また, HPLC法により 1,2,3,4-tetrahydro-1-furyl-9H-pyrido[3,4-b]-indole-3-carboxylic acidを含有していることを確認した。

1群A9 direct mut 4/17, 4/19, 4/20, 4/21, 4/22, 4/23, 4/24, 4/25, 4/26, 4/27, 4/28, 4/29, 4/30
2群A9 XAD-2 3/30, 3/31, 4/1, 4/2, 4/3, 4/4, 4/5, 4/6, 4/7, 4/8, 4/9, 4/10, 4/11, 4/12, 4/13, 4/14, 4/15, 4/16, 4/17, 4/18, 4/19, 4/20, 4/21, 4/22, 4/23, 4/24, 4/25, 4/26, 4/27, 4/28, 4/29, 4/30

P-20

アミノイミダゾキノリン化合物の光照射により生成する直接変異原物質

○若林敬二¹, 塩谷まみ¹, Spiros Grivas¹, Silvio De Flora², 長尾美奈子¹, 杉村 隆¹

(¹国立がんセンター研究所, ²University of Genoa)

ベンゾピレン、アミノフルオレン及びニトロソモルホリン等の変異原がん原物質を光照射すると直接変異原物質が生成することが知られている。新しく、アミノイミダゾキノリン化合物も光照射により直接変異原物質を生成することがわかった。

IQ及びMeIQを各々100 µg/mlの濃度でDMSOに溶解し、15分間、太陽光に曝露した。各試料の変異原性をサルモネラ菌TA98を用いて調べたところ、IQ及びMeIQ 1 µg当たり、各々3,000 及び3,600の直接変異原性が認められた。一方、Trp-P-1及びTrp-P-2は光照射しても直接変異原性を示さなかった。

次に、IQの光照射により生成する直接変異原物質の分離及び同定を試みた。光照射した試料をODSカラムを用いたHPLCで分離し、各フラクションの直接変異原性を調べた。変異原性は1つのピークフラクションのみに認められ、その回収率は90%であった。変異原性の認められたフラクションを再度ODSカラムを用いたHPLCで精製し、得られたピークフラクションのUV吸収をフォトダイオードアレイで分析した。その結果、直接変異原性を示す化合物のHPLCの保持時間及びUV吸収は、IQのアミノ基がニトロ基に変換した化合物のそれらに一致することがわかった。尚、このニトロ体の生成率は0.8%であった。

ODS
3-20% CH₃CN

in 25mM H₃PO₄/Na₂HPO₄ (pH 2.0)

1700 Å 20% CH₃CN

(0.7 µ 25mM H₃PO₄/Na₂HPO₄ (pH 4.6))

IQ 92%
MeIQ 100%

= NO₂ ← NH₂

P-21

Tyramine及びMTCAのラット骨髄細胞における変異原性 (第二報)
○藤江 喜美子 (大阪女子大学)、杉山 武敏 (神戸大・医・第2病理)

若林ら¹⁾によって食品中の新しい変異原前駆物質として分離同定された Tyramine及びMTCA (1-メチル-1,2,3,4-テトラヒドロ-β-カルボリン-3-カルボキシル酸) は、骨髄細胞を用いる小核形成と染色体異常テストにより変異原性を示すことを昨年の本学会において報告した。

亜硝酸処理をしない上記2化合物が in vivoテストにより変異原性を示したことから、ラット体内におけるニトロソ化を立証するためにプロリンの同時投与を行った。

大島 (IARC, Lyon)²⁾ は、ヒト体内におけるニトロソ化反応の指標としてニトロソプロリン他のニトロソアミノ酸を用いて注目されている。自然界に存在するアミノ酸の一種であるプロリンは二級アミンの構造を有し、亜硝酸と反応してニトロソプロリンを生じる。ニトロソアミンの多くは、主としてα位の炭素がマイクロゾームにより水酸化され、アルキル化剤を生じ、核酸と共有結合することによって突然変異が起こる。これがニトロソアミンによる発がんのイニシエーション過程であると考えられている。

一方、ニトロソプロリンをはじめ多くのアミノ酸はα位の炭素にカルボキシル基が付加しているために化合物の水溶性化が阻害されるため最終発がん物質への代謝活性化を受けないと考えられている。

Tyramine及びMTCAとプロリンの同時投与の後、染色体切断の頻度はいずれも有意に低下した。

参考文献

- 1) 若林敬二 食品中の新しい変異原前駆物質の研究, 変異原研究 8:1-5, 1986
- 2) 大島寛史 尿中のニトロソアミノ酸を指標とする癌の実験疫学, トキシコロジーフォーラム 8 (3) 1985

P-22

SOS反応の誘導を指標としたマイコトキシンの変異原性

○阿部賢一、上野芳夫（東京理科大、薬）

マイコトキシンはカビの代謝産物で、ヒト・動物に対し、発ガン性など様々の毒性を示し、それらの食品汚染が注目されている。それらのうち、強い発ガン性を有するアフラトキシンB₁ (AFB₁) などの変異原性は、Ames-test等で確認されているが、発ガン性を有するにもかかわらず、変異原性が確認されていないものもある。今回我々は15種のマイコトキシンについて、S-9の添加及び無添加におけるSOS反応の誘導を検討した。

試験法として、SOS-chromotestを用い、スクリーニング法としての効率化のために、マイクロタイルプレートに実験系を移し、条件を若干変更して試験を行った。

その結果、AFB₁、ステリグマトシスチン、ベルジカラリンなど、ビスフラン系の化合物は、Ames-testで変異原性を示し、かつ、SOS-chromotestでも陽性であった。一方、発ガン性を示すが、Ames-testで陰性のオクラトキシンAなどは陰性であった。

P-23

N-Propyl-N-nitrosoureaはマウス精原細胞に突然変異を誘発する
○澁谷 徹・室田哲郎*・常磐俊之・松本浩孝・堀谷尚古・原 巧
(食品薬品安全センター秦野研究所・* 三菱化成総合研究所)

私達はこれまでにN-alkyl-N-nitrosoureas (ANUs) がマウス体細胞に高率に突然変異を誘発することをマウススポットテストによって認めた。ANUsによる体細胞突然変異はアルキル基が短い程、高率に誘発され、また各々の化学物質に特有の奇形も誘発される。

1979年にW.L. Russell はN-ethyl-N-nitrosourea (ENU) がマウス精原細胞に高率に劣性突然変異を誘発することを発表し、大きな関心呼んだ。そこで私達はN-propyl-N-nitrosourea (PNU) が同様に突然変異を誘発するかどうかをマウス特定座位試験によって調べた。

PNU (半井化学) は使用直前にリン酸バッファー (pH 6.0) に溶解し、200mg/kgの用量でC3H/H_e雄: A/A, B/B, P C/P C, D Se/D Se (9週齢) に腹腔内投与した。投与8週間経過後からPW雌マウス: a/a, b/b, p c^{ch}/p c^{ch}, d se/d seと交配し、出産時に外表奇形について、また離乳後に毛色について観察し、突然変異の疑われるものについては交配によって変異した遺伝子座位の解析と、それらをホモにした場合の生存性についての確認を行った。対照群は無処理のC3H雄とPW雌の交配によって得られたものとした。試験はまだ完了していないがこれまでに得られた結果では、対照群では6191匹のうち突然変異個体は得られていない。一方PNU群では4482匹のうち7匹の変異個体が得られた。突然変異誘発率は $2.6 \cdot 0 \times 10^{-5}$ /遺伝子座/世代で、ENUによる突然変異誘発率のほぼ1/2であった。また遺伝子座位別ではそれぞれaが1, bが2, dが4個体であり、ホモの生存性については調べた変異個体のすべてが生存性を示した。またd座位の変異体のうちの多くがホモで共通の神経症状を示した。このようにENUおよびPNUによって誘発されるマウスの突然変異の頻度は体細胞と生殖細胞で相関性が認められ、マウススポットテストは特定座位試験のスクリーニング系として有用であると考えられる。

(この研究は厚生科学研究費補助事業によって行われた)

P-24 PNUによるショウジョウバエ伴性劣性致死突然変異の誘発 の原 巧、澁谷 徹(食品薬品安全センター、秦野研究所)

N-ethyl-N-nitrosourea (ENU) は細胞に対する毒性が低い濃度で突然変異を高頻度で誘発する「スーパーミュータジェン」として知られ、化学物質による突然変異の生成やその修復機構を研究するためのモデル化合物として広く用いられている。ENUの類縁化合物である N-propyl-N-nitrosourea (PNU) は *in vitro* の試験系および、マウスのスポットテスト等でその変異原性が確認されているが、ショウジョウバエに関しては報告されていない。そこで私達は PNU を用いた伴性劣性致死試験を行い、この化合物がショウジョウバエの生殖細胞に突然変異を生ずるかどうかを調べた。また類縁化合物の ENU および N-methyl-N-nitrosourea (MNU) についても同様の試験を行い、3化合物の比較を行った。PNU は 5 mM x 29 hrs. で精子、精細胞および精母細胞に約40%という高い頻度で伴性劣性致死突然変異を誘発した。雄の雌性にほとんど影響を及ぼさなかった。2.5 mM x 29 hrs. 処理でも約30%の誘発率を示した。これに対し MNU では10%程度の誘発率しか観察されず、ENU では5 mM x 24 hrs. 処理で約30%の誘発がみられたが、この場合の ENU で処理した雄の雌性は陰性対照群の2割以下に低下していた。これらの結果から PNU が ENU よりも更に強力な「スーパーミュータジェン」である可能性が考えられる。

P-25 シクロスポリンでヒト末梢リンパ球に誘発される sister chromatid exchange (SCE) と染色体異常

○津田昌一郎、谷脇雅史、三沢信一、瀧野辰郎(京都府立医大・三内)、福田雅武、岡隆宏(同・二外)、坂田由紀子、大江武、稲沢譲治、阿部達生(同・衛生)

シクロスポリンは真菌の一種である *Tolypocladium inflatum* Gram の培養液中から得られた11個のアミノ酸から成る環状ポリペプチドであり、リンパ球に作用して強い免疫抑制作用を発揮する。現在、臨床的には腎移植後の拒絶反応防止のため投与されている。今回、ヒトリンパ球を用いて *in vitro* および *in vivo* におけるシクロスポリンの SCE と染色体異常誘発を検討したので報告する。【材料・方法】1) 健康人末梢リンパ球を PHA 添加培養し、培養開始時、終濃度 20, 5, 2.5, 1, 0.5, 0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のシクロスポリン(サンド社)を加え48および72時間培養した。BrdU(終濃度 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$)を培養開始後24時間目に培地に加えた。2) シクロスポリンを投与されている3名の腎移植後患者(28才男、20才女、25才男)の末梢リンパ球を1)と同様に培養し BrdUを加えた。この3名のシクロスポリン1日投与量は 3.5-6.5mg/kg、総投与量は 200.7g, 191.5g, 68.6gであった。【結果・まとめ】1) 分裂指数は 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で急速に低下した(MI:0.001)。2) SCE は 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で 13.13 ± 4.06 となり control (5.85 ± 2.35) に比し有意に上昇した。3) 高濃度(10 $\mu\text{g}/\text{ml}$)において一部の metaphase に染色分体型および染色体型の gap がみられた。4) 腎移植後患者の SCE はそれぞれ 6.07 ± 2.37 , 5.27 ± 1.95 , 5.30 ± 2.39 であり control と差がなく染色体異常も認めなかった。

P-26

新規抗癌抗生物質FK973の染色体異常誘発作用

○宮前陽一、平井 収、小原 要、橋本正晴、天正 明
(藤沢薬品工業株式会社、安全性研究所)

目的)

抗癌抗生物質であるFK973は、マウスやヒトの腫瘍細胞に対しin vitroでMito-mycin C(MMC)より強い細胞毒性を示す。また、FK973は、各種変異原性試験(umu-テスト、TA102を用いたエームテスト、培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験並びに染色体異常試験、およびマウスを用いた小核試験)において陽性と判定された。しかしながら、これらFK973の変異原性作用は、MMCと比べて明らかに弱かった。

FK973の癌細胞に対する細胞毒性作用は、MMCと比べて強いにもかかわらず、変異原性作用が弱いという知見を基に、染色体異常誘発作用と細胞毒性作用について正常細胞と癌細胞を用い、比較・検討した。

方法)

正常細胞としてチャイニーズハムスター肺由来の線維芽細胞株Donを、癌細胞としてマウスメラノーマ細胞B-16を用い、染色体異常試験を行った。同時に、FK973の細胞毒性作用を、細胞生存率、細胞分裂率、コロニー形成率等により調べた。薬物は、0.0156、0.0625、0.25、および1.0 $\mu\text{g/ml}$ の濃度で、6および24時間処理した。対照物質として、市販の抗癌抗生物質であるMMCを用いた。

結果)

FK973の染色体異常誘発作用は、Don細胞とB16メラノーマのいずれにおいても作用濃度の点で細胞毒性作用とよく相関した。また、これらの作用は、Don細胞と比べてB16メラノーマでより低濃度から発現した。更に、FK973の染色体異常誘発作用および細胞毒性作用は、MMCと比較すると、Don細胞ではMMCよりも弱く、B16メラノーマでは強いことが明らかにされた。

P-27

催奇形剤のin vivo DNA修復試験

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

細菌の Rec Assay は Rec⁻株が変異原に致死高感受性を示すことを利用している。ショウジョウバエには除去修復と複製後修復の二重欠損変異 mei9mei41株があり、代表的変異原に致死高感受性を示すことが知られている。つまり、mei9mei41株と正常株の検体に対する致死感受性を比較することでin vivoでの検体のDNA損傷性を知ることができる。今回は代表的催奇形剤、Batamethasone, Fluocinonide, Hydrocortisone acetate, Aspirin, Thalidomide, Actinomycin D, Vitamine A, Ethylenethiourea, Hydroxyurea, Cyclophosphamide (11種) に対し、in vivo DNA修復試験がどのように反応するかをしらべた。方法: 検体は、Tween80+Ethanol溶液で懸濁し、餌に混ぜることで、幼虫へ経口投与した。結果: Batamethasone, Fluocinonide, Hydrocortisone acetate, Aspirin, Thalidomideは高濃度(餌中濃度80mg/g)で約50%の致死作用を起こし、mei9mei41株と正常株の生存率の違いは認められなかった。Actinomycin D, Vitamine A, Ethylenethioureaについては、正常株が50%生存率を示す濃度で、mei9mei41株も正常株同様50%の生存率を示した。Trypan blue, Hydroxyurea, Cyclophosphamideは、正常株に致死作用を示さない濃度でも、mei9mei41株には、80%以上の致死作用を示した。結論: 11種の検体のうち、in vivo DNA修復試験で、8種は陰性、3種は陽性となった。陽性3種(Trypan blue, Hydroxyurea, Cyclophosphamide)は、in vivoでDNA損傷を起こすことが判っている。つまり、in vivo DNA修復試験は、DNAに損傷を与える物質にのみ陽性反応を示すことが示唆された。翅毛スポットテストの結果も合わせて報告する。

P-28

Furfural類の変異原性

○龍 瑞林, 満生昌太, 野中美智子, 大村浩久
(九州大学, 食糧化学)

我々は代表的なレダクトンであるアスコルビン酸およびトリオースレダクトンが Cu^{2+} の共存によってDNA切断作用を示し、サルモネラ菌に対する変

異原活性およびマウス腫瘍の増殖抑制作用の活性も若干ながら増強されることを既に報告している。一方Aminocarconyl反応における初期反応中間体

のFurfural類はレダクトン類縁物質であるので同様の特性が期待される。

今回は5'-Hydroxyl-2'-methylfurfural(HMF)について Cu^{2+} 共存下における変異原性試験およびマウス腫瘍の増殖抑制試験を行なったので報告する。

in vitroの変異原性試験としてumu-lac test(TA1535/pSK1002)およびSpore-rec assay(M45 Rec⁻, H17 Rec⁺)を行なった結果、HMFはS9による代謝活性化の有無にかかわらず弱い変異原活性を示した。 Cu^{2+} 共存下においてはその活性が若干低くなる傾向が認められた。

in vivoの変異原性試験としてマウス骨髄小核試験を行なった結果、HMF単独では小核多染性赤血球の有意な出現を認めなかったが、 Cu^{2+} 共存下において小核多染性赤血球の有意な出現を認めた。

またマウス腫瘍の増殖抑制作用を調べた結果、HMFはSarcoma180 マウス腹水ガンの増殖を抑制すること、 Cu^{2+} 共存下ではその活性が増加することを認めた。

P-29

ムスカリン性アゴニストの変異原性

○保地 真一, 矢嶋 信浩, 岸 健彦, 川西 悟生
(雪印乳業株式会社, 生物科学研究所)

アルツハイマー型老人性痴呆症(SDAT)に対する治療薬の開発が社会的急務とされている。SDATの脳ではアセチルコリンの合成及び代謝に関する酵素の活性は低下しているが、そのレセプターは正常に維持されている。本研究では、コリン作働性ムスカリニックレセプターに結合し、抗痴呆薬として期待される新規合成物質: AF102Bと他のムスカリン性アゴニストについてその変異原性を比較検討した。

五種類のアゴニスト(AF102B, アセチルコリン, ピロカルピン, オキソトレモリン, アレコリン)についてサルモネラ菌TA98及びTA100を用いた復帰変異試験を行った。その結果、AF102B, アセチルコリン, ピロカルピンは最高濃度10mg/プレートまで、菌の種類、代謝活性化の有無に係らず、陰性であった。一方、オキソトレモリンはTA100を用いての直接法において僅かながらhis⁺コロニー数を増加させ、またアレコリンは直接法において濃度依存的にTA100のhis⁺コロニー数を増加させた。

さらに、AF102B, オキソトレモリン, アレコリンについて、V79細胞を用いてHGPR T欠損への前進突然変異試験を行った。3時間処理による細胞毒性試験の結果、ID50はそれぞれ、14mM, 18mM及び3mMであった。AF102B及びオキソトレモリンは、20mMまでの処理では6チオグアニン耐性(6TG^r)コロニー数を有意に上昇させなかった。アレコリンの処理によって6TG^rコロニー出現頻度は高められた。またCHL細胞の染色体に及ぼす影響を調べたところ、24時間、48時間いずれのアゴニストで処理しても染色体異常を誘起するような作用は認められなかった。

P-30

高分子医用材料の変異原性について

○高橋 淳子、井坂 英彦
((財) 食品薬品安全センター・秦野研究所)

近年、プラスチック、ポリエチレン、ポリウレタン等の高分子化合物が、医用材料として多方面に利用されている。しかしながら、医用材料の安全性に関する問題は、十分な解析がなされているとはいえない。医用材料の安全性の問題には、材料が生体系に及ぼす影響としての生物学的安全性と、生体系が材料の劣化に及ぼす影響としての材料学的安全性とがある。今回は、生物学的安全性のうち、医用材料として役割が最も大きい高分子材料についての突然変異誘発性を検討した。

ポリエチレンテレフタレート、ポリ塩化ビニル、ポリサルフォン、セルロース、シリコンゴム、ポリウレタン、アルミナ、ハイドロキシアパタイト及び生体活性ガラス(シート状、粒子状、粉末状)を各条件下において抽出し、その抽出物の変異原性をAmes法により調べた。

試料5gに対して生理食塩液10ml及びDMSO 10mlを加え、60回/分で37℃、24時間振とう抽出し、Salmonella typhimurium TA100及びTA98を用いて変異原性試験を行った。S-9は、PCB(KC-500)により酵素誘導したラット及びハムスター肝を使用した。一方、医用材料は、滅菌して使用されることから、試料をそれぞれ高圧蒸気滅菌、次亜塩素酸ナトリウムによる滅菌及びEOによる滅菌後、上記同様の試験を行った。その結果、ポリサルフォンとポリウレタン(DMSO抽出の場合)に、弱い変異原性を示し、これ以外の条件下における試料には変異原性は認められなかった。また、血漿を用いて抽出した場合についての結果も合わせて報告する。

P-31

キノキサリンダイオキサイド誘導体の変異原性

○高萩 真彦、布柴 達男、西岡 一 (同志社大、生化研)

キノキサリン-N¹、N⁴-ダイオキサイド(QdO)化合物、特にカルバドックス、オラキンドックスは、家畜の成長促進剤として使用されてきた。これは、これらの化合物のDNA合成阻害作用に基づく抗菌性によるもので、特にブタ赤痢菌に対し、非常に強い抗菌力を示すことが知られている。最近、カルバドックスに変異原性、発ガン性が報告されている。このため我々は、新しく合成されたQdO誘導体3種を含むQdO化合物5種について、大腸菌WP2uvrA/pKM101を用いたstreptomycin 5 γ 耐性への前進変異系、サルモネラ菌TA98、TA100を用いたHistidine復帰変異系により変異原性を、また、我々の開発した「Rec-lac test」、すなわちrecA-lacZ融合遺伝子をもつ大腸菌およびそのDNA修復変異株3種(uvrA6、recA56、lexA3)を用いる方法によってSOS遺伝子誘発性を検討した。

その結果、両変異原性試験系において、いずれの化合物も明瞭な量効果関係が観察された。前進変異系ではS9mixによる代謝活性化によりカルバドックス以外の化合物の変異原性が高まった。復帰変異系では、S9mixの添加によって、TA98ですべての化合物の変異原性を高めたが、TA100ではカルバドックスを含む3種の化合物の変異原性を低下させた。

一方、SOS遺伝子誘発性試験では、いずれの化合物も、recA-lacZ融合遺伝子をもつ大腸菌4種のうち、野生株、uvrA欠損株の2株においてrecA遺伝子の誘発に対応する β -galactosidaseの誘導が認められたが、recA、lexA欠損株では認められなかった。

以上の結果から、調べられた5種のQdO化合物はいずれも、SOS反応に含まれるerror-prone repairに基づくと思われる変異原性を示すことが明らかとなった。また、SOS遺伝子誘発性は、野生株とuvrA欠損株で同程度であったことから、これらの化合物によるDNA損傷は、除去修復により修復されないタイプである可能性が示唆された。

P-34

エンジオールレダクトンの変異原性

○野中美智子、大村浩久
(九州大学、食糧化学)

レダクトン類は食品の加工、貯蔵、調理などにもなう食品成分間反応の中間体であり、その代表的なものはエンジオールレダクトンである。我々はレダクトン類によるDNA切断、細菌や腫瘍細胞の増殖抑制、突然変異誘起、ウィルス不活化、酵素活性阻害などの諸現象を観察している。今回は9種のエンジオールレダクトン〔Pyrogallol, Catechol, Hydroxyhydroquinone, D-(+)-Catechin, Protocatechualdehyde, Gallic Acid, Caffeic Acid, Chlorogenic Acid, Protocatechuic Acid〕の変異原性について報告する。

孢子 Rec-assay を行なった結果、いずれの検体も陽性であった。Ames試験 (preincubation法) および IMF 試験法によって *Salmonella typhimurium* TA100, TA98 に対する変異原性を調べた結果、Pyrogallol, Catechol, Hydroxyhydroquinone, D-(+)-Catechin, Protocatechualdehyde は TA100 および TA98 に対して陽性であった。Gallic Acid は TA98 に対して陽性であった。Caffeic Acid は TA100 に対して陽性であった。Chlorogenic Acid, Protocatechuic Acid は両菌株に対して変異原性を認めなかった。マウスの小核試験を行なった結果、Pyrogallol, D-(+)-Catechin, Caffeic Acid は2回連続投与、5回連続投与のいずれも小核を有する多染性赤血球の有意な出現を認めた。その他の検体は2回連続投与ならびに5回連続投与いずれも陰性であった。

P-35

翅毛スポットテスト — 発癌物質の変異原性とその修飾因子について—
○西崎千春、根岸友恵、早津彦哉 (岡山大・薬)

従来より我々の研究室では、種々の変異原物質の変異原性修飾因子の研究を、Ames test を用いて行って来た。この結果見つかつた修飾因子が、細菌より高等な動物では、どのような作用を示すかを *ショウジョウバエ* の翅毛スポットテストを用いて調べた。このテストは *ショウジョウバエ* の幼虫に検体を摂取させ、翅毛に現われる体細胞突然変異を見るものである。このとき幼虫は変異原物質を主に経口的に摂取することからヒトが経口的に摂取する可能性の高い焼けこげ変異原など食品中の変異原に対する修飾因子の検索によいモデルになりうると考えられる。

Ames test では焼けこげ変異原の活性がクロロフィリン類によって顕著に抑制されることは、既に報告している。そこで、クロロフィリンを加えた培地中で幼虫に Trp-P-1 を同時に与えたところ、表のような結果を得た。すなわち Trp-P-1 に対しては、細菌で得られるような著しい抑制効果は見られなかった。現在、強力な発癌物質として知られる N-Nitrosamines などに対する修飾作用も検討中である。

Reagent per culture bottle	Spots per wing (number of spots)			Number of wing scored
	S. S.	L. S.	Tw.	
Trp-P-1 10 μ mol	0.71 (84)	0.25 (29)	0.03 (4)	118
Trp-P-1 10 μ mol + Chlorophyllin CuNa Salt (40mg)	0.54 (87)	0.11 (17)	0.07 (11)	160
Control (H ₂ O)	0.23 (7)	0.03 (1)	0 (0)	30

* S. S.; small single, L. S.; large single, Tw.; twin

P-36

ショウジョウバエの修復能欠損二重変異株mei-9^amei-41^{D5}幼虫の4-aminobiphenylと2-aminobiphenylに対する致死感受性

○肥後ひろみ¹⁾, 藤川和男²⁾, 佐藤幸男¹⁾

1) 広島大・原医研, 2) 武田薬品・中央研

ハエのmei-9^amei-41^{D5}系統を利用するDNA修復試験は、構造が類似している化学物質のがん原性やin vivo変異原性の強弱を手っ取り早く予測するのに、有用であるかも知れない。この試験系における、4-aminobiphenyl (4-ABP)とその異性体2-ABPのDNA損傷性の強度を比較した。

雄が常に修復能欠損二重変異を担い、雌が常に正常な修復能を示すように工夫した株mei-9^amei-41^{D5}/C(1)DX(me-9.41/mei⁺)の3令幼虫が生育している培地を準備した。その培地上に4-ABPあるいは2-ABPを適量含む2% ethanol・1% Tween-80混液を滴下することによって幼虫を処理した。処理後6日以降、被処理培地から羽化してくる雄バエ(me-9.41)と雌バエ(me-9.41)の数を記録した。4-ABP処理も2-ABP処理も、mei-9.41雄/mei⁺雌の比を対照区レベル(性比1.1~1.3)以下に用量依存的に減少させた。同様な処理実験を雄も雌も正常な修復能を有す株mei-9⁺mei-41⁺/C(1)DXを用いて行ったところ、いずれの検体も性比を減少させる効果を示さず、mei-9.41雄/mei⁺雌の比の減少は、修復能欠損幼虫の選択的致死現象であることを確認した。

得られた用量・効果関係から、mei-9.41雄/mei⁺雌の比を0.5にするのに要する用量は、4-ABPで0.15~0.2mg/ml、2-ABPで約20mg/mlと推定した。mwh/flr系を用いる翅毛スポットテストで、変異原性活性も4-ABP≫2-ABPであることが判った。これらの結果は、既報のがん原性試験の結果と定性的に一致する。

P-37

ジアゾキノンの生成とその変異原性

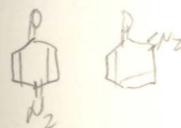
○加藤哲太、菊川清見

(東京薬大)

フェノール性化合物のチラミンやバメタンは、酸性条件下、亜硝酸と反応して、代謝活性化なしに変異原性を示すジアゾキノン化合物を生成することが知られている。今回、フェノールについて亜硝酸との反応を追跡し、反応生成体と変異原性との関連について検討した。

フェノールを1-10倍モルの亜硝酸とpH 3または5で37°C、4時間反応させると、p-ニトロソフェノール、p-ジアゾキノン (I) およびo-ジアゾキノン (II) が生成した。pH 3におけるこれらの生成量は、フェノールと亜硝酸の量比によって影響を受け、亜硝酸等モルの反応液では、p-ニトロソフェノールが主生成物(44%)として検出されたのに対し、亜硝酸10倍モルの反応液ではp-ニトロソフェノールの生成は少なく、Iが高収率 37%で検出された。またIはp-ニトロソフェノールを経由して生成することが分かった。pH 5においてはいずれの反応液からもp-ニトロソフェノールが主生成物として認められ、ジアゾキノン類の生成は極めてわずかであった。Iは代謝活性化なしに *S.typhimurium* TA98および100で活性を示す直接変異原物質で、その活性はTA98で 85 His⁺ revertants/20 nmol、TA100で 87 His⁺ revertants/5 nmolを示し、これ以上のdoseでは、細菌毒性のため活性が低下した。IIは細菌毒性のため変異原活性は認められなかった。ジメチルアミンの共存下、フェノールと亜硝酸を反応させた場合p-ニトロソフェノールによって変異原物質N-ニトロソジメチルアミンの生成が促進された。

以上の結果よりフェノールは、酸性条件下亜硝酸と反応して変異原性p-ジアゾキノンを生じ、ジメチルアミンから変異原物質N-ニトロサミンの生成を促進することが明らかになった。この反応はフェノール性化合物に共通に起こる反応と考えられる。



HR2C ODS.6.

P-38

米国NTP計画との協力研究—25種化合物の染色体異常試験

○松岡厚子、沢田穂、畑中みどり、祖父尼俊雄、石館 基
(国立衛試・変異原)

米国NTP(National Toxicology Program)では遺伝毒性試験の一環としてチャイニーズ・ハムスターCHO細胞を用いる染色体異常試験を行っている。我々は1984年、NTPより同じ種類の検体計25種類の供給を受け、CHL細胞を用いるプロトコルに従って実験を行ったので報告する。供給された検体は、トリおよびテトラクロロフェノール類6種、フェニレンジアミン類9種、ナフチルアミン類2種、ジフェニルアミン類4種、その他4種であった。

トリおよびテトラクロロフェノール類は全て、S9非存在下では、染色体異常を誘発しなかったが、4位に置換基のない2,3,6-trichlorophenolおよび2,3,5,6-tetrachlorophenolは、S9の添加によって、明らかな染色体異常誘発性を示した。

一方、フェニレンジアミン類は1検体を除いてすべて、S9非存在下で染色体異常を誘発し、S9を添加すると、染色体異常誘発性は抑えられる傾向を示した。直接染色体異常を誘発しなかった1検体は、9種のフェニレンジアミン類のうちで細胞毒性は最も強かったが、S9を添加しても陰性であった。

N-phenyl-1-naphthylamineはS9の有無に拘らず陰性であったが、N-phenyl-2-naphthylamineはS9存在下で低頻度ながら染色体異常を誘発した。

ジフェニルアミン類のうち、p位のalkoxy置換体2種は、直接染色体異常を誘発し、異常頻度は異なるが、同様なdose-response curveを示した。ニトロソ体は、S9存在下で明らかな染色体異常誘発性を示した。

その他の化合物では、triallyl isocyanurateはS9存在下で染色体異常を誘発したのに対し、そのエポキシ体はS9非存在下、母化合物の1/100以下の濃度で高頻度の染色体異常を誘発した。但し、エポキシ体はS9存在下で、染色体異常誘発性が完全に抑えられた。また、chromium carbonylおよび1-(1,2-dibromoethyl)-3,4-dibromocyclohexaneは、共にS9存在下で陽性となった。

以上の結果、全検体25種のうち、陰性となったものは5種、S9非存在下で陽性となったものは11種、S9存在下で陽性となったものは11種(重複2種)であった。

P-39

F₁奇形誘発に関する精祖細胞の各種変異原に対する遺伝的反応

○長尾哲二、石塚康夫、和田あづさ、水谷正寛
(食品薬品安全センター、秦野研究所)

Methylnitrosourea (MNU) および ethylnitrosourea (ENU) のマウス雄生殖細胞処理によって、精祖細胞が、これら変異原の作用を受けて、F₁奇形をもたらすことを明らかにした(Nagao, Mutat. Res., 1987a,b)。ENUはMNUと異なり、精祖細胞で強い遺伝毒性を示すことが特定座位突然変異(SLM)を指標とした研究で明らかにされている変異原である。精祖細胞でSLMを誘発する作用を有す他の変異原は、精祖細胞処理でF₁奇形誘発に関してどのような効果を示すだろうか? この疑問に答えるため、mitomycin C (MMC), triethylenemelamine (TEM), procarbazine (PCZ) および propyl methanesulfonate (PMS) を用いて本研究を行った。その結果、これらのいずれも精祖細胞処理でF₁に奇形をもたらすことが明らかとなり、変異原のF₁奇形誘発効果は、遺伝毒物に一般に期待できる性質であることが示唆された。

本研究を、MNU, ENU処理で得られたF₁奇形に関するデータおよび報告されているSLMのデータと比較し、遺伝毒性発現の一形態としてのF₁奇形の特異性について考察する。

Genotoxic effectiveness of various mutagens in spermatogonial stem cells for the induction of congenital defects and specific locus mutations

Mutagen	Congenital defects	Specific locus mutations
	MD ₂ ^a	MD _{0.02} ^a
TEM	0.007	0.006
MMC	0.007	0.001
MNU	0.6	ineffective
ENU	1.3	0.1
PCZ	1.5	1.2
PMS	3.0	5.2

a, Mutagenically effective dose for producing congenital defects with a frequency of 2% or specific locus mutations with a frequency of 0.02%.

P-40

1、3-ブタジエンの捕集バックを用いた変異原性試験

○野口 忠^A、荒木 明宏^B、高橋 典代^B、松島 泰次郎^B
A: 労働衛生検査センター B: 日本バイオアッセイ研究センター

〔目的〕 ガス状物質の微生物を用いる変異原性試験方法は、ガラス容器による暴露方法が報告されている。今回我々は、代謝活性化の条件下でサルモネラ菌 TA 1535 で変異原性が知られているガス状物質、1、3-ブタジエンを用いて、ガス捕集バック（テドラバック）による簡易な試験方法を検討した。

〔試験方法〕 最少グルコース寒天培地に菌懸濁液 0.1 ml および S9 Mix 0.5 ml (P.B & B.F 誘導のSD ラット肝 S9) をトッパアガーを用いて広げた。このプレートのふたをはずし、特製ホルダーにより固定し、捕集バックに入れ密閉した。予め清浄空気により希釈した1、3-ブタジエン 5 ml 封入することにより暴露を開始した。この方法により、1) S9量、2) 暴露時間、3) 暴露温度、4) トッパアガー量、5) 暴露プレート数等について検討した。

〔結果および考察〕 1) 37℃、48時間、1、3-ブタジエン 20%濃度で暴露した場合、S9量 50 μl/プレートで明確な量反応曲線が得られ、S9量は 100 μl/プレートが最適であった。2) 37℃、4時間の暴露では変異原性を検出することはできず、少なくとも14時間以上必要であった。3) 30℃と37℃で24時間暴露した場合、30℃の方が感度が良い傾向であった。4) 菌および S9 Mix をスプレッドする方法よりもトッパアガーで重層するほうが感度が良かった。5) 暴露プレート数4枚以上（プレート当りの暴露量 1000 ml 以下）ではほぼ同じ変異原性の強さを示し、2枚以下では（プレート当りの暴露量 1000 ml 以上）では減少する傾向が認められた。

ガス捕集バックを用いる方法で、我々は数多くのガス状物質の変異原性を調べて良い結果を得ており、この方法は比較的安全で、操作が簡単かつ安価でありガス状物質の変異原性の検出に有用であると思われる。

P-41

Balb/c 3T3 cellを用いた Cell Transformation 試験法の検討

○野本邦子、稲山真理子、村上仁一、小木曾重文、吉武 彬、宮本純之、
〔住友化学工業（株）宝塚総研安全性研究所〕 角永武夫〔大阪大学 微研〕

化学物質の癌原性を検出する方法の一つとして、株化細胞の癌化を直接調べる in vitro Cell Transformation 試験がある。3-メチルコランスレン(3MC) によって出現する Type III Foci の性質について検討を加えるとともに、この試験方法を他の変異原物質に応用した。

Balb/c 3T3 cell (A-31-1-1)¹⁾ を 5.0×10^4 cells/6cm plate で播種し、24時間前培養した後、3MC (0.5, 1.0, 3.0 ug/ml) で3日間処理をした。3日後に細胞数を測定して細胞毒性を求めた。一方、化合物処理後の細胞を 4.0×10^4 cells/6cm plate で播種し、3~6週間培養を続けて出現する Foci を計数した²⁾。一部の Type III Foci についてクローン化し、4種のクローンの性質について検討した。4種のクローンは、親細胞に比べて増殖速度が速く、軟寒天中での増殖能を持ち、抽出したDNAを NIH 3T3 cell にリン酸カルシウム法でトランスフェクトすることにより、NIH 3T3 cell をトランスフォームさせた。また、4種のクローンのうち3種は、ヌードマウスへの移植腫瘍性を示した。

また、MNNG, 4NQO, Trp-P-1, o-Tolidine について、Balb/c 3T3 cell を用いた Cell Transformation 試験を実施した。MNNG, 4NQO, Trp-P-1 は強い Transformation 活性を示し、Type III Foci の出現数に濃度依存性が認められたが、o-Tolidine は Transformation 活性を示さなかった。

1) Kakunaga, T., Crow, J. D. : Science, 209, 505-507 (1980)

2) Schechtman, L. M., in Kakunaga, T. & Yamazaki, H., (eds),

"IARC Scientific Publication No. 67", 165-184 (1985)

P-42

細胞増殖自動解析装置による抗菌性物質の復帰変異試験

○島田 弘康、佐武 左知子

(第一製薬株式会社 中央研究所)

寒天平板上にバクテリアと薬物が同時に長時間接触する通常のAmes testでは、抗菌性を示す物質はその殺菌作用のため変異原性の有無を判定することが困難な場合が多い。これを解決するために、生菌数から突然変異率を換算する誘発突然変異頻度試験(IMF-test)が考案されているが、手技の繁雑さ、感受性および再現性などの点で問題が多い。

今回我々は、細菌の増殖を比濁法により自動解析する装置(Bioscreen)を用いて、各種抗菌性物質について変異原性の検討を行なった。最初の検討として、感受性の向上を目的として培地についての検討をおこなった。その結果、選択培地(Vogel-Bonner medium E)の無機塩類濃度を上げ、更にアミノ酸混合溶液¹⁾を添加することにより感受性が大幅に増し、従来のAmes法では検出が難しかった過酸化水素などが容易に検出可能となった。次に検体と指示菌とのインキュベーション時間について検討したところ、一定時間内では処理時間に依存した変異原性の反応が得られた。これらの検討結果をもとに、各種殺菌剤、抗生物質等の抗菌性物質について検討した結果について報告する。

1)Arimoto,S.et al(1981) Mutat.Res.,91,407.

P-43

変異原性試験に用いる細胞とその感受性などについて

○田中憲穂¹⁾、山影康次¹⁾、上杉透¹⁾、岩崎彌平次²⁾

(¹⁾食薬安全センター・細胞毒性、²⁾小西六写真工学・環境管理)

In vitro 染色体試験では、国際的に広く用いられているCHOをはじめとして、V-79、CHL、Donなどチャイニーズ・ハムスター由来の細胞株が、その染色体数が少ない事や増殖能の良さなどの理由からよく用いられている。また、ヒトの初代培養細胞としてリンパ球もよく用いられている。本実験では、作用機序の異なる種々の薬剤をチャイニーズ・ハムスター、マウス、ヒトなどの初代培養細胞を含む多数の細胞株に処理し、細胞毒性やin vitroでの小核誘発を比較検討した。加えて、in vitroでの小核試験と染色体試験の結果を比較する事により、in vitro小核試験の有用性を検討した。

得られた結果の中で、in vitroの染色体試験に最もよく用いられているCHLとCHOの細胞毒性試験の結果を比較すると、MC(マイマイシンC)処理ではCHOが、DES(ジethylstilbestrol)処理ではCHLの方が感受性が高く、同一動物由来細胞でも細胞種間で薬剤に対する反応性は異なった。小核誘発に関しては、ヒトリンパ球やHeLa細胞ではチャイニーズ・ハムスター由来の細胞に比べ抵抗性が見られた。一般に初代培養細胞は薬剤に対して抵抗性を有すると考えられるが、チャイニーズ・ハムスターの場合、継代数3代目の胎児細胞ではMC処理においてCHL細胞よりも高頻度に小核を誘発した。また、用いた薬剤の種類により細胞毒性と小核誘発の結果は必ずしも相関しなかった。以上の結果より、有核細胞を用いるin vitroの小核試験は染色体数にかかわらずどの細胞にも適用できる簡便な方法であり、薬剤の低濃度処理においても検出可能である事から、in vivo小核試験と同様に実用化されてよい試験系である事が確認された。

P-44

'Mouse Hemoglobin Mutation Assay' について

° 室田哲郎¹⁾, 宮川 誠¹⁾, 井上由起¹⁾, 長池一博²⁾, 吉川邦衛¹⁾
(三菱化成, 総合研究所第2部門, 安全性研¹⁾, 応用生物研²⁾)

マウスを用いた体細胞における遺伝子突然変異検出系として 'Mouse Hemoglobin Mutation Assay' の開発がオランダ, ライデン大学を中心に進められている。この検出系はヘモグロビンのアミノ酸の変異を指標とし, 変異原処理により誘発された変異赤血球を蛍光抗体法により検出するものである。この検出系は, 少数のマウスを用い, さらに短期間に試験実施可能なことから, 化学物質の変異原性のスクリーニング系としての有効性が期待されている。私達もこの検出系の開発を進めているが, 本会では開発にあたって現在までに得られた結果について報告する。

単クローン抗体の作製には, C3Hf/He 系マウス (Hbb^d/Hbb^d) をエチルニトロソウレア処理して得られたヘモグロビンβ鎖の変異体* (Hbb^{d2}/Hbb^{d2}) のβグロビン (β^{d2}minor) を精製し, 抗原として用いた。これをBALB/c系マウスに免疫した後, 免疫脾細胞とマウス骨髄腫細胞, P3U1とをPEG 1500で融合した。培養細胞上清中の抗体活性のスクリーニングは精製グロビン (β^{d2}minor, β^dminor) を抗原とした酵素免疫測定法 (ELISA) により行った。その結果, 480 well中14wellでβ^{d2}minor に対して陽性クローンが認められ, このうち11クローンについて, 限界希釈法によりクローニングを行った。クローニングの結果, 1440 well 中 37 wellで高い活性をもつハイブリドマクローンが得られたが, 目的としたβ^{d2}minor とβ^dminor のアミノ酸組成の相違を認識するクローンはできなかった。しかし, β^s との相違を認識する特異抗体産生性ハイブリドマクローンが1株得られた。現在, この抗体を利用した蛍光抗体法による検出系についてその有用性を検討中である。

* Murota et al. Mutation Research, 104, 317-321, 1982

P-45

Micrococcus luteus突然変異株による畜水産食品中の残留
抗生物質検出系の開発

○金西信次, 神保勝彦, 橋本常生 (都立衛研)
金城康人, 渡部 真 (都立アイソトープ研)

畜水産食品中に残留する抗生物質を分別同定するには, 厚生省が通知した「畜水産食品中の残留物質検査法 第1集の3」に記載される方法があるが, 操作法が煩雑である。桐谷ら, 並びに神保らによって改良が進められているが, これらの方法に関して, 次の点が問題となった。(1) 桐谷らの検査法では, Micrococcus luteus ATCC 9341がペニシリン系およびマクロライド系抗生物質に共に感受性を示し, この方法のみでは識別できない。(2) 神保らの化学的方法によって各抗生物質を分離検出することが可能であるが, 多数の検体を同時に処理する必要性から, より簡便な方法の開発が望まれている。今回我々は, ATCC 9341からペニシリン (PCG) 抵抗性, およびエリスロマイシン (EM) 抵抗性の突然変異株を分離し, ペニシリン系とマクロライド系抗生物質の分離操作を行わずに, 直接バイオアッセイ法によって両抗生物質系をそれぞれ識別することが出来, 更にこの方法によって両抗生物質系が混合しているか否かを判定することも可能になった。なお, ATCC 9341では, UV, MNNG等の突然変異誘発剤によりPCG抵抗性, およびEM抵抗性の突然変異を誘起することが困難であった。この菌をPCG耐性にするような機構が遺伝的に欠けているか, あるいはE.coli等にみられるSOS修復系による突然変異誘発機構を欠いているためと考えられる。我々はATCC 9341がM.radiodurans等のように組換えによって突然変異を起こすものと考え, 抗生物質の濃度を徐々に増加させて培養した後, MNNGで処理することによって抵抗性突然変異株を分離することが出来た。

P-46

変異原活性の再現性に及ぼす諸要因の検討

○遠藤治、山内恒幸、後藤純雄、松下秀鶴

(国立公衆衛生院・地域環境衛生学部)

発がん物質による環境汚染の実態を調べるためには、多数の地点での定期的なモニタリングが必要となる。現在、このモニタリングは化学計測によって行われているが、変異原性試験は通常の化学計測法より定量性や再現性で劣るためモニタリングには使用されていない。そこで、このようなモニタリングを可能にする手法を開発する目的をもって、大気浮遊粉じん抽出物を中心に Ames 試験による変異原活性の定量性・再現性に及ぼす諸要因の検討を行った。

I. 変異原活性に及ぼす抽出方法の影響

① Soxhlet抽出法と超音波抽出法による変異原活性を、それぞれ Dichloromethane と Benzene-Ethanol(3:1, v/v) を用いて比較したが、大きな差は認められなかった。

②変異原性試験のための検液の調製法として溶媒転換法の検討を行った。すなわち、Soxhlet抽出法により得た抽出液の濃縮過程で一定量の DMSO を加え、これを濃縮して検液 (DMSO溶液) を調製する方法について検討した。その結果、抽出溶媒に Benzene-Ethanolを用いると、一旦乾固させてから DMSO に溶解するよりも溶媒転換法を用いた方が高い活性が得られやすく、再現性も良好であった。一方、抽出溶媒に Dichloromethaneを用いた場合では、溶媒転換法と従来法とで、あまり大きな差は認められなかった。

II. 変異原活性に及ぼす菌前培養時間の影響

従来、Ames 試験に用いる菌液は37℃で、14~16時間振とう (60~70往復/分) の条件で前培養されてきたが、この条件で実際に菌の成長曲線を求めると培地容器の形等によって差があることが判った。L字管で培養した場合には7~9時間ではほぼ一定の菌数が得られ、いくつかの変異原性物質の活性は培養時間により変動することを認めた。

P-47

umu 試験の高感度・簡易化に関する研究

○後藤純雄^{*}、青木祐子^{**}、遠藤治^{*}、松下秀鶴^{*}、片山敬^{**}

(^{*}国立公衆衛生院・地域環境衛生学部、^{**}東京理科大学・薬学部)

(目的) 極微量しか得られない環境試料や、高速液体クロマトグラフィー分取物などの変異原性を測定することは、環境中の変異原性物質の存在実態を明らかにし、それらの汚染対策を講ずる上で重要である。そこで、本研究では、測定時間が数時間と短く、DNA 損傷性検出法の一つである umu 試験法を取り上げ、微量試料の変異原性を高感度かつ迅速に測定するための umu 試験手法の改良を行った。

(方法) umu 試験には、サルモネラ菌 TA1535/pSK1002株を用い品川らの従来法、及びその改良法 (結果に示す) を用いた。Ames試験には、サルモネラ菌 TA100及び TA98株を用い、プレインキュベーション法を用いた。

(結果) 得られた結果の概要は次の通りである。

1. 変異原性物質 (4NQO) の作用により菌体内に生成する β -ガラクトシダーゼの活性測定には、4-メチルウンベリフェリル- β -D-ガラクトシドを基質とする蛍光光度法が適用可能である。
2. 容量100 μ lのマイクロバイアル (パイレックスガラス製) を用いて、変異原性物質と菌との反応溶液の容量を10 μ lとし、これに上記の蛍光光度法を適用すると極微量の被験物質の変異原性測定が可能となり、従来の方法の約300倍の高感度化が可能である。
3. 上記手法による4NQO (0~6.6ng) の変異原性試験結果の変動係数は5.6~8.9%であり、その再現性も良好である。
4. β -ガラクトシダーゼの活性測定のための菌の膜破壊には超音波照射法が適用できる。

P-48

alkA-lacZ融合遺伝子を用いた変異原検出系について

○大塚 雅 則、小 椋 正 造

(財)化学品検査協会 化学品安全センター 日田研究所

大腸菌の alkA 遺伝子は、アルキル化剤に対する適応的応答に際して誘導されるDNA修復遺伝子である。

我々は、alkA-lacZ融合遺伝子を作製し、 β -ガラクトシダーゼ活性を指標として、種々のアルキル化剤のDNA損傷能について調べた。

また、alkA 遺伝子の誘導特性をみるために、SOSレギュロンの一つである umu 遺伝子の誘導と比較した。

試験菌株：alkA-lacZ

E. coli CSH26/pMCP1000

umu-lacZ

E. coli CSH26/pSK1002

試験は、常法により対数増殖期の細胞にアルキル化剤を添加し、37℃で2時間培養した後、 β -ガラクトシダーゼ活性をMillerの方法を一部修正して測定した。

試験の結果、umu 遺伝子がいずれのアルキル化剤であっても致死濃度において誘導効果が高まるのに対して、alkA 遺伝子は、アルキル化剤の中で特にメチル化剤(MNNGやMNU等)において、極めて低濃度の段階で著しく誘導される事が明らかになった。

このことから、alkA-lacZ融合遺伝子は、極低濃度のメチル化剤によるDNA損傷の検出に有用であると考えられる。

P-49

Rec-lac test の開発と評価 [I]

○布柴 達男、西岡 一(同志社大・生化研)

大腸菌のDNAに損傷(DNA分子の修飾、鎖切断、DNA合成および複製の阻害など)が生ずると一連のDNA修復系(SOS response)が誘導され、その修復系に属するSOS遺伝子群はすべて recA-lexA 両遺伝子の制御を受けることが明かとなり、突然変異の多くはSOS遺伝子のひとつである umuDC に依存するerror-prone repairに起因すると考えられている。これに基づき、変異原と密接に関係するSOS誘導物質を検索するため、SOS遺伝子の発現を観察する方法が開発されている。方法は、SOS遺伝子群に属する umuC や sulA と β -galactosidaseの構造遺伝子である lacZ の融合遺伝子をもつバクテリアを用い、誘導される β -galactosidase活性を測定してSOS遺伝子の発現を検出するものである。

本報では、SOS responseの中心的役割を演じ、突然変異にも直接的に関わると考えられる recA 遺伝子(突然変異はRecAとUmuCが相互に働き不正確な塩基を挿入することによる、という説に基づく)と lacZ との融合遺伝子をgenomeにもつ大腸菌とそのDNA修復変異株3種(uvrA6、recA56、lexA3)を用い、SOS誘導物質の検索系として「Rec-lac test」を開発し、その有用性を検討した。

その結果、既知の変異原であるUV、4NQO、MNNG、MMS、MMCなどに対し明瞭な量効果関係が得られた。いずれの場合にも、変異原処理後、30-60分以内に活性が定常化するので、測定時間が短縮される。これは、recA 遺伝子が umuC 遺伝子より早期に大量に発現されるからと考えられる。また、recA、lexA 欠損株を用いることにより、陰性対照を調べることもできる利点もある。現在、代謝活性化を要する変異原やAmes法では検出しにくい過酸化物質やアルデヒド類について検討を加えている。

P-50

ラット末梢血リンパ球の微量全血培養による

SCE分析法と系統比較

○白石 不二雄 (国立公害研・環境生理部)

環境変異原物質暴露によるDNA損傷の蓄積を調べる目的で、ヒトあるいは実験動物のリンパ球を培養して姉妹染色分体交換(SCE)分析による検索が試みられている。しかしながら、ラットの末梢血リンパ球はヒトで通常用いられている Phytohaemagglutinin (PHA) の刺激では、ヒトリンパ球のように培養液に微量の全血を加える培養法(マイクロ法)では幼若化が不十分であり、SCE分析は困難である。そこで、前処理の必要がなく、多量のサンプルの培養に適するマイクロ法によるラットリンパ球のSCE分析法の開発を試み、汎用されているラットの3系統(Wistar, Sprague-Dawley, Fischer)間について、細胞分裂動態、基底及び誘発SCE頻度について比較検討したので報告する。

微量全血培養によるSCE分析法の検討には、Wistar系雄ラットを用いた。採血はエーテル麻酔下で後大動脈から行い、ヘパリン処理した。15%牛胎仔血清加 RPMI 1640 培養液(20 μ M BUdR) 5 mlに0.4mlの全血を加える培養条件を基本として、mitogen の Concanavalin A (Con-A)と補助剤のメルカプトエタノール(2ME)の最適濃度の検討を行ったところ、Con-A 20 μ g/ml + 2ME 10 μ M の両添加濃度で最高のmitotic indexを示し、SCE分析に適することが示唆された。ラット3系統間について上記培養法により比較を試みたところ、mitotic index および replicative index を指標とした細胞分裂動態は、両指標とも SD) Wistar) Fischer の順に高く、mitogen に対するリンパ球の感受性に系統差があることが示唆された。基底SCE頻度は、3系統間に差は認められなかったが、Mitomycin C 負荷による誘発SCE頻度は、Wistar 系と Fischer 系との間に有意な差が認められた。また、ヒトの末梢血リンパ球についてラットと同様の Con-A + 2ME 刺激によるマイクロ法でのSCE分析を試みたところ、本培養法でもSCE分析が可能であることが示唆された。

P-51

In vitro染色体異常試験におけるpHの影響

○森田 健、渡辺芳江、武田憲三、奥村和夫

(新日本実業株式会社 東京研究所)

一般に、In vitro染色体異常試験は培養液のpHを7.2~7.4で実施しているが、これは細胞の至適pHにほかならない。化合物のなかには培養液のpHに変動をきたし、染色体異常誘発に何らかの影響をおよぼすことが考えられる。また代謝活性化法ではS9の活性低下、変性による影響も無視できない。今回我々は、NaOH, KOH, HCl, およびH₂SO₄をpH調整剤として用い、pH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(CHO-K1)を用いて若干の検討を行なった。

細胞毒性試験の結果、染色体異常試験が実施可能な初期pHの範囲は、約pH4.5~pH10.5であった。S9 mix 添加により酸性、アルカリ側とも若干、毒性が強まった。

アルカリ条件下において直接法では染色体異常を誘発しなかったが、代謝活性化法ではpH10.5(NaOH:16mM, KOH:12mM)で、切断および交換型異常を誘発した。この異常誘発率は、S9量に依存して増加し、またS9のみでは異常を誘発しなかったことから、S9のアルカリ処理物が染色体異常を誘発している可能性が示唆された。また酸性条件下では、直接法において約pH4.5(H₂SO₄:8mM)~pH5.3(HCl:12mM)で切断型異常の誘発が認められ、代謝活性化法においては切断および交換型の異常が認められた。

これらの知見をもとに、染色体異常試験におよぼすpHの影響について考察する。

P-52

サイトカラシンB脱核法を用いた *in vitro* 小核試験法

— 脱核に伴う小核の消失頻度 —

○ 仁藤 新治、小野 隆昭、近藤 靖、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た小核試験では、小核の有無を脱核直後の多染性赤血球中で観察するため、小核の判別が容易という利点がある。しかしながら、赤芽球中に形成された小核が脱核を免れる理由については明らかにされておらず、経験的に脱核に伴う小核の放出はあっても少ないものと考えられている。今回、我々はサイトカラシン B (Cyt-B) の高濃度処理により、脱核を起こすことが知られているマウス由来の L-929 細胞を用いて、*in vitro* 小核試験法を考案し、さらに脱核に伴う小核の消失頻度に関する検討を行なったので報告する。

L-929 細胞は、Cyt-B (8 $\mu\text{g}/\text{ml}$) を含む培養液中で 8 時間処理した時に、約 30% の細胞が脱核を起こし無核細胞となった。試験では、マイトマイシン C (MMC) およびビクリスチン (VCR) で小核を誘発させた L-929 細胞を、Cyt-B で 8 時間処理した後、有核(単核)細胞および無核細胞中の小核頻度を測定した。さらに細胞あたりの小核数についても測定した。

その結果、MMC および VCR はいずれも用量に依存して有核(単核)細胞および無核細胞に小核を誘発した。この時、MMC および VCR の低用量では約 31-39% の小核を有する細胞が脱核時に小核を消失した。また高用量になるにしたがって、小核頻度とともに細胞あたりの小核数も増加したものの、脱核に伴う小核の消失率は逆に減少した。これらのことから、脱核に伴う小核の消失率には細胞あたりの小核数が深く関与しているものと思われた。

P-53

経口投与時における小核出現率におよぼす絶食の影響

○ 鈴木修三、直 弘、畠山義朗

(実中研・前臨床研・変異原性研)

目的：夜行性の小動物であるマウスやラットでは、薬物投与前日夜間の絶食は大きなストレスとなり、赤芽球系の増殖が抑制されることが知られているので、マウスの小核出現率におよぼす絶食の影響について基礎的検討を行った。

実験方法：動物は 8 週齢のオス Jcl:ICR 系マウスを 1 群 4 もしくは 5 頭として用いた。被験物質には Cyclophosphamide (以下、CP) を用いた。実験系は絶食群と摂食群を設け、絶食群は、14 時間の絶食の後 75 mg/kg CP を経口および腹腔内投与し、投与後 3 時間以降自由摂餌状態とした。また、この他に無処置対照群および、CP を投与しない絶食群を設けた。標本作成は、CP 投与後 24 時間および 48 時間目に常法に従って行った。観察は多染性赤血球 (以下、PCE) 1000 個中の小核を含む多染性赤血球 (以下、MNPCE) の出現率および PCE と正染性赤血球の比率を測定した。

結果および考察：CP 投与における小核の出現率は、IP 群および PO 群ともに 48 時間目の絶食群が摂食群の約 2 倍の高値を示した。一方、同時期の絶食群の PCE 比は摂食群にくらべ低下を示した。また 48 時間目の絶食対照群の PCE 比は、無処置対照群にくらべて低下傾向が認められた。以上より、薬物投与前に絶食状態に置かれたマウスでは、摂食群にくらべ造血抑制傾向が強く、その結果 MNPCE 出現率に影響をおよぼすと考えられた。

また、IP 群および PO 群ともに同一傾向を示したことから、絶食の有無による胃からの薬物吸収の影響よりも、絶食による赤血球の造血抑制の影響の方が結果により強い影響を示すと考えられた。

小核試験における投与経路の差

小核試験共同研究グループ (JEMS・MMS分科会)
世話人 須藤 鎮世 (野村生研)

の実常バー (加はウ) の使用 (ms) ... 35機関の参加 ... 投与経路 ... 比較出現頻度 ...

- 大昭 (田研), 巧 (内衛), 大川 (衛野), 藤 (康鈴), セ (食), 藤 (義日), 藤 (康鈴), セ (食), 藤 (義日), 藤 (康鈴), セ (食) ...

小核試験のための統計学的手法

林 真, 祖父尼俊雄, 石館 基 (国立衛試・変異原)

in をら計 2) めると技投与ドあ が ... 結果を計 ... 統計学的手法 ...

- 条件-1: 管理図法にみ陰性および陽性対照群のデータは適正 ... 条件-2: 背景ソブの対数を ... 条件-3: 有意な場合同原 ...

モンテカルロ・シミュレーションの結果 ... p=0.002, n=1000 ...

P-56

マウス小核試験における系統差

○佐藤精一、乾 直道（日本たばこ・生物実験センター）

現在小核試験には多くの系統のマウスが用いられ、いくつかの変異原ではマウスの系統間に感受性の違いが報告されている。マウスを用いる小核試験でその物質の変異原性を評価するうえで使用するマウスの系統と薬剤に対する感受性は重要な問題である。我々はこれまでに芳香族炭化水素（第11回本学会）、核酸アナログ（第15回本学会）の小核誘発能にマウスの系統間で差があり、芳香族炭化水素では C57BL/6 と BALB/c、核酸アナログでは BALB/c が小核を多く誘発することを報告した。

本試験では、近交系マウス（C57BL/6, BALB/c, DBA/2）を用い、変異原としてアルキル化剤（MMS）、紡垂体形成阻害剤（Colchicine）、金属（クロムカリ）、蛋白合成阻害剤（Cycloheximide）、核酸代謝拮抗剤（5-FU）をそれぞれ系統の異なるマウスに1回処理して、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時間後に行い、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を計数した。

結果：BALB/cでは投与したすべての薬剤で対照と比較して有意に高く小核が出現した。C57BL/6とDBA/2ではMMS、Colchicine およびクロムカリで有意に高く出現し、Cycloheximideと5-FUでは小核は増加しなかった。

系統間で小核の出現頻度を比較すると、BALB/cとC57BL/6はMMSおよびクロムカリで小核の誘発がDBA/2よりも高く、BALB/cとDBA/2はColchicineでC57BL/6よりも高く小核を誘発した。

以上の結果から、BALB/cは他の2系統のマウスに比べ、より多くの変異原に対して小核誘発能の高い系統であることが示唆された。

P-57

ENU によるマウススポットテスト

— 使用する雌マウスの系統差 —

マウススポットテスト共同研究グループ（JEMS・MMS分科会）

マウススポットテスト（MST）は Russell と Major（1957）によって開発され、放射線や化学変異原による遺伝子突然変異を *in vivo* で検出できる優れた試験系である。わが国においての実施例はこれまで少なかったが、土川（遺伝研）が毛色や外耳の形態についての劣性遺伝子をホモに固定した PWマウス（a/a, b/b, pc^h/pc^h, dse/dse）の近交系を確立し、これを静動協でSPF化したことにより、わが国でもその実施が容易になって来た。本学会のMMS分科会では1984年よりPWの雄マウスによるMSTの共同研究を、ethylnitrosourea（ENU）を用いて実施している。今回、統一プロトコールによって雌の系統差について検討したので、その結果を報告する。

PWの雄との交配における繁殖性およびF₁における変異誘発性に関する雌の系統差を調べるため、雌マウスについてはC57BL/6（B6）をスタンダードとし、わが国で供給可能なB10のコンジェニック系を数系統用いた。その他に、土川が確立したKYGの近交系雌マウスも使用した。ENUは数段階の用量を妊娠10日目の雌に腹腔内投与した。出生F₁についてその数、奇形の有無等を出生直後に、また、melanoblastsの突然変異による劣性色素斑（RS）、細胞死による腹側白斑（WMVS）等を離乳の前後に2回観察し、同じ用量群毎に集計した。その結果、

1. B6においては腫栓の認められた雌のうち、妊娠する割合が他系統の雌に比べて著しく低かった。
2. RSはENUに対してきれいな用量依存性を示し、低用量まで直線性が認められた。また、その出現頻度はKYGを除く系統間ではほとんど差が認められなかったが、KYGでは高値を示した。

今後、この共同研究で得られたデータを分析し、日本におけるMSTの標準的プロトコールについて提案したい。

共同研究参加者（所属機関）

一ツ町 晋也（武田薬品）、
小野 隆昭（田辺製薬）、
三枝 雅（生技研）、
渋谷 徹（食薬センター）、
祖父尼 俊雄（国立衛試）、
土川 清（遺伝研）

大島 稔彦（山之内製薬）、
佐々木 有（残農研）、
佐藤 忠夫（中外製薬）、
島田 弘康（第一製薬）、
須藤 鎮世（野村生科研）、

P-58

³²P-ポストラベル法によるDNA付加体の分析法の検討

斉藤幸一, ○中川聖子, 小木曾重文, 中塚 巖, 吉武 彬, 宮本純之
住友化学工業(株)宝塚総合研究所安全性研究所

³²P-ポストラベル法は, 現在用いられているDNA付加体検出法の中でも非常に高感度なものとして知られている。この方法は, DNAを, エンドヌレアーゼ, エキソヌレアーゼでモノヌクレオチドに分解した後, [γ -³²P] ATPを用いてラベルし, TLC, またはHPLCなどの分析手段を用いて, DNA付加体を検出する方法である。

我々は, DNA付加体をより高感度に検出することを目的として, 次の3法を比較検討した。1) 全ヌクレオチドをラベルした後, 付加体をTLCで分離する方法¹⁾, 2) C18逆層TLCによりDNA付加体を分離抽出後ラベルする方法²⁾, 3) n-ブタノール/水によりDNA付加体を分液抽出後ラベルする方法³⁾。

Safrole, Estragole, Benzo(a)pyreneを投与したマウス肝, 及び2-Acetylaminofluoreneを投与したラット肝から抽出したDNAについて上記3法を用いて³²P-ポストラベルを行い, 付加体を定量し比較した結果, いずれの化合物もブタノール抽出法が最も感度が高く, また検出されるDNA付加体の種類も多い結果が得られた。さらに, 4-Nitroquinoline-1-oxideを投与したラット前胃, 及び1,8-Dinitropyrene, Dibenz(a,i)carbazoleを投与したマウス肝より抽出したDNAについてブタノール抽出法で分析した結果, DNA付加体が検出された。

1) Gupta, R. C., Reddy, M. V., and Randerath, k. Carcinogenesis, 9:1081-1092 (1982)

2) Reddy, M. V., Irvin, T. R., and Randerath, k. Mutation Res., 152:85-96 (1985)

3) Gupta, R. C. Cancer Res., 45:5656-5662 (1985)

P-59

Pyrenequinone並びにBenzo[a]pyrenequinoneによるDNA切断について

古川秀之¹, ○河井一明¹, 常盤 寛² (¹名城大、薬、生物学、
²福岡県衛生公害センター)

[目的] ピレンやベンゾ[a]ピレンは空気中で日光照射によりキノンを生成する。またピレンやベンゾ[a]ピレンに二酸化窒素を作用させるとキノンを生成することがある。これらのキノン類は変異原性を有するが、DNA切断について検討したい。
[実験] ピレンやベンゾ[a]ピレンをシリカゲルプレート上で、空气中7時間日光照射により生成したキノン類を薄層クロマトグラフィーにより精製し、1,6-及び1,8-ピレンキノン並びに1,6-及び3,6-ベンゾ[a]ピレンキノンを得た。

キノン類のそれぞれ0.15 μ mol DMSO溶液に15 μ lのリン酸緩衝液(pH 7.4)に溶解した0.38 μ gのpBR322(4,362bp)あるいは0.53 μ gの λ ファージDNA(約49Kbp)を加え、37°C、暗室、14時間、NADH存在(0.15mg)及び非存在下で作用させた。

DNA切断の確認は0.8%アガロースゲル電気泳動により、切断により生じるRFIIまたはDNA断片を観察した。

[結果・考察] 1,6-ピレンキノン、1,8-ピレンキノン及び3,6-ベンゾ[a]ピレンキノンはpBR322の環状DNAに対し、NADH存在下で著明な切断を、NADH非存在下で微弱な切断をそれぞれ与えた。1,6-ベンゾ[a]ピレンキノンはpBR322よりRFIIバンドを与えないのみならず、元のDNAも消失しているため、DNAが極めて小さく切断された可能性が考えられる。

λ ファージDNAについては、本実験条件では切断像を与えなかった。

P-60

Nitropyrene及びNitrobenzo[a]pyreneによるDNA切断について

○古川秀之¹、河井一明¹、常盤寛²（¹名城大、薬、生物科学、²福岡県衛生公害センター）

〔目的〕ニトロアレン類は環境中普遍的に見いだされる強い変異原である。しかし、DNA切断とか染色体異常に関してはどのような性質を示すか関心の持たれるところである。演者らはshort term assayの立場からニトロアレンによるDNAの切断について検討してみたいと考えた。

〔実験〕ピレンやベンゾ[a]ピレンを二酸化窒素存在下、光照射によりニトロ化を行った。光反応生成物を薄層クロマトグラフィーの方法で精製し、ピレンより1-ニトロピレン、1,6-ジニトロピレン、1,8-ジニトロピレン及び置換位置不明のジニトロピレン（1,3-ジニトロ体ではない）を得た。またベンゾ[a]ピレンより置換位置不明のジニトロベンゾ[a]ピレンを得た。1-ニトロピレン、1,6-ジニトロピレン、1,8-ジニトロピレン、1,3-でない他のジニトロピレン0.17 μ molのDMSO溶液10 μ lと0.2 μ gの ϕ X-174DNA(5,386bp)のpH7.4リン酸緩衝溶液15 μ lとを0.15mgのNADH存在下又は非存在下に、37 $^{\circ}$ C、暗室で14時間作用させた。ニトロ基置換位置不明のジニトロベンゾ[a]ピレン0.15 μ molのDMSO溶液10 μ lと0.2 μ gの ϕ X-174DNA(5,386bp)のpH7.4リン酸緩衝溶液15 μ lとを0.15mgのNADH存在下又は非存在下に、37 $^{\circ}$ C、暗室で14.5時間作用させた。また、37 $^{\circ}$ Cの水浴中で500Wタングステンランプで1.5時間光照射の後に、60Wタングステンランプで14時間照射して作用させた。DNA切断像は、0.7%アガロースゲル電気泳動により観察した。

〔結果・考察〕1,6-ジニトロピレン、1,8-ジニトロピレン及び他のジニトロピレン（1,3-ジニトロ体ではない）でNADH存在下に ϕ X-174DNAの著明な切断像が観察された。

ジニトロベンゾ[a]ピレン（ニトロ基の置換位置は不明）は本実験条件では ϕ X-174DNAを切断しなかった。

今後、他の多環芳香族炭化水素のニトロ体について種々の条件下におけるDNA切断の検討を続けたいと考えている。

P-61

適応応答反応調節因子(Ada蛋白質)の直接的メチル化による活性化

○高橋和彦¹、作見邦彦²、中別府雄作²、関口睦夫²、川添豊¹（名市大・薬¹、九大・医²）

メチル化剤による適応応答反応の誘導はDNA上に生成したO⁶-メチルグアニンやメチルリン酸トリエステルからAda蛋白質であるO⁶-methylguanine-DNA methyltransferase(MTase)へメチル基が転移し、このメチル化Ada蛋白質が正の調節因子として働いて一連の修復酵素を誘導し、アルキル化剤に対して抵抗性になると考えられている。一方、演者等はヨウ化メチル(MeI)は極めて弱い遺伝子傷害性しか示さないが適応応答反応を強く誘導し、これはAda蛋白質を直接的にメチル化することによる可能性を報告してきた。本研究では、MNU、MMS、MeIのメチル化剤を用い、in vitroでAda蛋白質が直接的にメチル化されることによりMTaseが不活性化され、転写活性が促進されるか否かを検討し、DNAを介した間接的メチル化Ada蛋白質の活性と比較検討した。

MTase活性に関して、MNUでは間接的メチル化により効率良く失活させるが、MMS、MeIでは、この順に直接的メチル化の関与が増大し、化学的反応性との相関性が見られた。一方、転写促進活性に関しては、MNUでは間接的メチル化によって強く活性化されたのに対して、MMS、MeIではむしろ直接的メチル化によって効率良く活性化された。また、本実験条件下では、MeIによる間接的メチル化による活性化は見られなかった。以上の結果はsubcellularの系においてAda蛋白質を直接的にメチル化することによってもAda遺伝子の発現を促進させることを実証するものであり、細胞内でAda蛋白質の直接的メチル化により適応応答反応を誘導する機構が存在することを強く示唆するものである。

P-62

MNU処理による雄マウス生殖細胞のDNA損傷とその修復

○井上雅雄、栗原孝行、宮越 稔（金沢医大・共同研）

C3H/He雄マウス腹腔にトリチウムで標識したメチルニトロソウレア(^3H -MNU, 13.05mCi/m mole) 78mg/kgを投与した後、経時的に全生殖細胞からDNAを抽出し、その塩基損傷(メチル化塩基)を液体クロマトグラフィーで検出した。処理後4時間における単位DNA量当りのメチル化塩基の生成量は、肝細胞に比べN-7-メチルグアニン(N-7MeG)が約1/5、O-6-メチルグアニン(O-6MeG)が1/6、N-3-メチルアデニン(N-3MeA)が1/10と、いずれのメチル化塩基の量も低かった。また、その後の修復速度は、N-3MeAが最も早く、次いでO-6MeG、N-7MeGは最も遅かった。しかし、いずれのメチル化塩基も肝細胞のそれらに比べると遅かった。

一方、これらの3種のメチル化塩基を含む仔牛胸腺DNAを基質として、全生殖細胞の抽出タンパクと反応させたところ、N-7MeGやN-3MeAの除去に働く修復酵素活性は肝細胞に比べ高い値を示したが、O-6MeGの脱メチル化活性は逆に低かった。そこで、生殖細胞をBSA濃度勾配溶液中で分別し、採集した生殖細胞について上記と同様な方法を用いてその修復酵素活性を測定した。その結果、修復酵素活性はN-7MeG、O-6MeG、N-3MeAのいずれも、早期精原細胞と精母細胞群で最も高く、次いで後期精原細胞と精子細胞群で、精子細胞と精子の群では最も低かった。

これらの結果から雄マウスMNU処理によってF₁に誘発される遺伝的毒性の要因を考察したい。

P-63

不飽和脂肪酸過酸化物による8-ヒドロキシデオキシグアノシンの生成

○葛西宏、新谷知子、西村暹（国立がんセンター研・生物）

我々は先に種々の酸素ラジカル発生系によりDNA中に8-ヒドロキシデオキシグアノシン(8-OH-dG)が生成することを見出した。DNA中の8-OH-dGは*in vitro*におけるDNA複製中に塩基の読み間違いを引き起こすので突然変異や発がんの原因となり得ると考えられる。今回、日常食品に多量に存在する不飽和脂肪酸の過酸化物により8-OH-dGが効率よく生成する事を見出したので報告する。

種々の不飽和脂肪酸をあらかじめ自動酸化させ、デオキシグアノシンを溶かしたリン酸緩衝液と37°Cで振とうして、エマルジョン状態で反応させた。8-OH-dGの生成は高速液体クロマトグラフィーに接続した電気化学検出器およびフォトダイオード・アレー検出器により検出、同定した。その結果、リノレン酸およびリノール酸で顕著な8-OH-dGの生成が認められた。DNAと反応させた場合にも8-OH-dGの生成が認められた。EDTAやDETAPAC(鉄キレート剤)の添加により8-OH-dGの生成が抑えられる事からこの反応には金属イオン、特に鉄イオンの関与が考えられた。オレイン酸および飽和脂肪酸のパルミチン酸、ステアリン酸では8-OH-dGの生成は認められなかった。

過酸化脂質はサルモネラ菌に対し変異原性を示し(山口ら、1979)、また不飽和脂肪酸は発がん促進効果を示すことが知られている。不飽和脂肪酸の過酸化物から生じた酸素ラジカルが8-OH-dGやDNA鎖切断(森田ら、1983)などのDNA損傷を引き起こし突然変異や発がんに関与する可能性が考えられる。

P-64

フェカペンテンによるDNA中の8-ヒドロキシグアニンの生成
○塩谷まみ, 若林敬二, 佐藤茂秋, 山下克美, 長尾美奈子,
杉村 隆 (国立がんセンター研究所)

フェカペンテン-12 及び-14 は人の糞便中から単離された化合物であり、直接変異原性を示す。また、DNA 1本鎖切断、SCE、UDS誘導活性が報告されている。しかし、DNA損傷のメカニズムはわかっていない。フェカペンテン-12 はサルモネラ菌TA100 よりもTA104 に対して強い直接変異原性を示す。したがって、フェカペンテンのDNA修飾には酸素ラジカルが関与している可能性がある。そこでフェカペンテン-12 及び-14 が8-ヒドロキシグアニンを生成するか否かについて検討した。

仔牛胸腺DNA とフェカペンテン-12 及び-14 を0.1Mトリス塩酸緩衝液(pH 7.4)中で、37℃、2時間、遮光下で反応させた。その後DNAをヌクレアーゼP₁とアルカリホスファターゼでヌクレオシドに分解し、生成する8-ヒドロキシデオキシグアノシンをODSカラムを用いたHPLCで分析した。尚、8-ヒドロキシデオキシグアノシンの検出には電気化学検出器を用いた。0.5-3.0 mMのフェカペンテン-12 で処理したDNA中に生成した8-ヒドロキシデオキシグアノシンは、デオキシグアノシン10⁴個当たり1~5個であった。フェカペンテン-14 の場合もほぼ同様な結果が得られた。尚、無処理のDNA中から検出された8-ヒドロキシデオキシグアノシンはデオキシグアノシン10⁴個当たり0.2個であった。フェカペンテンによるDNA修飾の1つには酵素ラジカルが関与していることが示唆された。

フェカペンテン

P-65

過酸化水素共存下におけるメチルグリオキサールの
変異原性と反応性について

○糠谷東雄, 岩見禎彦, 辻 邦郎, 小菅卓夫 (静岡薬科大学),
若林敬二, 長尾美奈子, 杉村 隆 (国立がんセンター・研究所)

糖の加熱分解により生成するメチルグリオキサール等のα-ケトアルデヒド類は、食品中の変異原物質として加熱食品のみならず発酵食品など多くの食品中に含まれている。コーヒー中の含量は特に多い。メチルグリオキサールの変異原性は過酸化水素により10倍以上に増強される。コーヒーにはこれら両者が含まれており、コーヒーの変異原性はこれらα-ジカルボニル化合物と過酸化水素による相乗作用で説明できる。また、メチルグリオキサール及び過酸化水素は共に生体内に存在する化合物である。そこで、メチルグリオキサールの変異原性が過酸化水素の共存により増強される機構の解明を試みた。

過酸化水素の共存によりα-ジカルボニル化合物はリン酸緩衝液中(pH 6.86) 37℃で速やかに分解し、10倍量の過酸化水素の存在下では1時間以内で半分以下に減少した。主分解生成物としては出発物質に対応するカルボン酸が得られた。また、メチルグリオキサールに1/10当量の過酸化水素を加えた場合には、カルボン酸以外にジアセチルが0.25%の収量で生成しているのが認められた。このことは分解過程でかなりの量のアセチルラジカルが生成し、このラジカル同士が重合したと考えられる。α-ジカルボニル化合物と過酸化水素の共存により、アシルラジカルが生成するならば、こうした反応性の高い基が核酸中の塩基を修飾することも当然考えられる。そこで、メチルグリオキサールと過酸化水素が共存する系にグアノシンを加えたところ、N²-アセチルグアノシンの生成することが明らかになった。また、インスタントコーヒーをリン酸緩衝液に溶解し、グアノシンを加えた場合にもこの化合物が生成した。以上の事実は、フリーラジカルにより核酸塩基を有機的に修飾する反応が存在する証拠を示すものである。

(厚生省がん研究助成による。)

P-66

N-OH-Trp-P-2の銅フタロシアニンによる分解

○米澤真弓、有元佐賀恵、早津彦哉（岡山大・薬）

（目的）我々の開発した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加熱変異原などの多環性縮合環をもつ変異原の抽出に有用である。その原理が銅フタロシアニン環と、変異原の多環構造との間のアフィニティーによることも報告した。従って、食品加熱変異原の活性化体であるN-ヒドロキシ体についても多環構造を保っていることから、同様の方法による抽出が可能と考えられる。ところが、これらの活性化体はこの方法によっては、活性を回収できなかった。この原因を明らかにするため、我々は銅フタロシアニンスルホン酸とN-OH-Trp-P-2との相互作用について検討した。

（方法）変異原活性についてはAmes法によって実験した。また反応液中のN-OH-Trp-P-2の定量は逆相の高速液体クロマトグラフィ（HPLC）によって行なった。

（結果・考察）Amesテストにおいて、銅フタロシアニンスルホン酸はN-OH-Trp-P-2の変異原性を抑えた。またHPLCによる定量により、N-OH-Trp-P-2単独の場合と比較して銅フタロシアニンスルホン酸を加えると、N-OH-Trp-P-2の消失速度が速くなることが分かった。反応液中の酸素をヘリウムガスで置換するか、或は、反応液を遮光したほうがN-OH-Trp-P-2の分解が遅くなった。以上のことから銅フタロシアニンスルホン酸がN-OH-Trp-P-2の分解を促進させ、またその反応には酸素ラジカルなどの活性酸素が関与していると思われる。従って、活性体の抽出においても、操作の過程で分解が起こり、活性回収ができなかったものと思われる。今後はこの反応を考慮に入れることにより変異原物質の活性化体の抽出・回収も可能とすることができるとも思われる。

P-67

ステビオールによる突然変異誘発機構について
——サザンブロット法による解析

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

天然甘味料として利用されているキク科植物(*Stevia rebaudiana*)より得られるステビオサイドは、経口的に摂取されると腸管内で配糖体が除かれ、ステビオールとなる。ステビオサイドには変異原性は認められない。しかしステビオールは復帰突然変異を検出するAmes系(TA100, TA97, TA98, TA102)では変異原性を示さないが、前進突然変異を検出する系(*Salmonella typhimurium* TM677, 8-azaguanine耐性)においてはS9mix存在下で変異原性を示すことが報告されている(1,2)。この結果は、ステビオールが代謝活性化を受けたあと、Ames系では検出されない比較的大きな変異(欠失、挿入、置換など)をDNA上に引き起こす可能性を強く示唆している。我々はサザンブロット法を用い、上記の点を明らかにするため実験を行ったので報告する。

S. typhimurium TM677にS9mix存在下でステビオールを作用させ、8-AG耐性コロニーを10株得た。これらの菌体より高分子DNAを抽出し、制限酵素BamHI, Sau3AIで分解したあと、大腸菌に由来するEcogpt遺伝子DNAをプローブにサザンブロットハイブリダイゼーション法によって、TM677の変異XGPRT遺伝子の構造解析を行った。変異遺伝子は制限酵素で切断した場合、19.5Kbと8.5Kb(BamHI)および1.1Kbと0.6Kb(Sau3AI)にプローブとハイブリダイズするバンドを示したが、どちらの場合も野性型との間に分子量の差は検出されなかった。現在さらにDNAを小さく切断する制限酵素(HaeIII, HpaII, AluI, RsaI, TagI)を用い検討しているので、これらの結果を含めて報告する。

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

2) 日本環境変異原学会第15回大会(1986)

P-68

種々の長さにクローンされたmuc 遺伝子の突然変異増強機能

田ノ岡 宏 田中 和彦 (国立がんセンター研, 放射線)

エイムステストに含まれるプラスミドpKM101より, 突然変異誘発増強機能をもつmuc 遺伝子をクローン化し, 1959bpのDNA (muc364) の塩基配列をさきに決定した。このmuc364のプロモーター部からたん白よみとり部にかけてBa131 で分解し, 種々の長さに切りとったmuc を枯草菌プラスミドpE194 由来のEry. プロモーター(堀之内ら。ATG を含む。)に方向とframe を合せて接ぎ, シャトルベクター (pTE22R) を用いて大腸菌WP2 の中でその突然変異増強機能の発現をみた。テスト変異原として主にMMS, UVを用いた。

[結果] mucAのたん白よみとり開始ATG より61bpまで切っても突然変異誘発増強機能が残されているが, 72bp以上切るとその機能が消失することが見出された。このことはmucAたん白のAla²⁵-Gly²⁶部(われわれの測定ではAla²⁶-Gly²⁷)がrecAたん白によって切断されて活性化するという仮説(Walkerら)を支持し, さらにumuDC の発現(品川, 加藤ら)やSOS 反応に共通な活性化機構を示す。さらにSOS box 部を切りとり, SD部を残したmuc1017 (頭部42bpは合成ポリマー)はlexA (ind⁻) 大腸菌のMMS 突然変異率を約100 倍上昇させた。このことは突然変異誘発経路にlexAを介在しないものが存在することを示す。さらに枯草菌の場合にもmuc1017 によって約10倍の突然変異率上昇をみたが, 枯草菌ではプロテアーゼ活性がこの機能を低下させるらしいのでその欠損株を用いてさらに検討中である。

P-69

Erythropoiesisから見た小核試験

(その3) Indomethacinの小核誘発能に与える影響

○鈴木勇司, 林 和夫, 益頭尚典, 清水英佑

(慈恵医大, 公衆衛生)

我々は, erythropoiesisの変化が小核試験の結果に与える影響を検討してきたが, 今回は, prostaglandinの合成阻害剤であるindomethacinを用いて検討したので報告する。

<方法> BALB/c雄マウスに, indomethacin (10, 5, 2mg/kg)を腹腔内に17時間々隔で2回投与し, その1時間後に変異原物質(mitomycin C: MMC, vincristine: VCR)を腹腔内に投与した。変異原物質投与後30時間目に骨髓細胞を得た。

<結果> 1. Indomethacinには, 小核誘発能が認められなかった。また, indomethacinを小核試験に応用するにあたって, その毒性を考慮して 10 mg/kgを最高投与量とした。

2. MMC, VCR 共に, 単独投与したときの小核誘発頻度と比較して, indomethacin併用投与群では明らかに小核の誘発抑制が認められた。

<考察> 赤芽球-赤血球系細胞の分化・増殖は, erythropoietinにより調節されており, またerythropoietinの産生は, prostaglandinにより調節されていると考えられている。従って, prostaglandinの合成阻害剤であるindomethacinを投与することによって, erythropoietin産生が抑制され, その結果erythropoiesisも抑制されると考えられる。前回は, erythropoiesisの亢進が変異原物質による小核誘発頻度を高くすることを報告したが, 今回の結果は, erythropoiesisの抑制が変異原物質による小核誘発頻度を低下させることを示唆した。

P-70

ジアルキルヒドラジン類の突然変異原性の発現機構

○松下洋久、小野明美、武田 啓、望月正隆 (共立薬大)

1,2-ジアルキルヒドラジンは生体内で代謝活性化されて発癌性を示す。この活性化機構としてアゾキシアルコール体を中間体とする経路が知られているが、脱アルキル化してモノアルキルヒドラジンとなる経路も考えられる。また、1,1-ジアルキルヒドラジン類の活性化機構については詳細な検討はなされていない。そこで1,1-および1,2-ジアルキルヒドラジンとモノアルキルヒドラジンの変異原性を比較して、ジアルキルヒドラジンの代謝活性化の機構を検討した。

1,1-および1,2-ジアルキルヒドラジンとモノアルキルヒドラジン(アルキル基:メチル、エチル、プロピル、ブチル)を合成し、サルモネラTA1535および大腸菌WP2 hcr-、WP2 uvrA/pKM101を用い、S9 mixの存在下と非存在下で変異原性試験を行なった。

1,1-および1,2-ジアルキルヒドラジンの変異原性発現にはS9 mixを必要とした。1,1-体と1,2-体の比較では1,2-体の方がいずれの菌に対しても強かった。大腸菌WP2 hcr-において1,2-ジアルキルヒドラジンでは活性様式に及ぼすアルキル基の効果がモノアルキルヒドラジンと同様であった。サルモネラTA1535に対してはいずれもメチル体の活性が最も強かった。S9 mixの存在下で1,2-ジアルキルヒドラジンの活性はモノアルキルヒドラジンと様式が類似し、1,2-ジアルキルヒドラジンがモノアルキルヒドラジンを経て代謝される可能性も示された。一方、1,1-ジアルキルヒドラジンはこれらの活性様式とは異なり、別の代謝経路をとることが示唆された。

P-71

Nitrobenzene誘導体の変異原性発現機構

—肝Cytosol中の活性増強因子の性状—

森田 修、高橋直樹、○鈴木潤三、鈴木静夫(東京理大・薬)

Nitrobenzene 誘導体は環境変異原として注目されている一般のNitroareneとは異なり *S. typhimurium* TA98に対する変異原性発現にNorharman(NH)とRat肝S9を必要とする。この活性化はNH存在下での肝 Microsomes酵素による芳香環の酸化代謝と、試験菌のNitroreductaseによるN-Hydroxylamineへの還元とによって起こる事、また肝Cytosol がその変異原性を更に増強させる事を既に我々は明らかにしている。本研究では o-Chloronitrobenzene(o-CNB)を用いてCytosol中の活性増強因子の性状とその作用形態について検討した。

Cytosolの変異原性増強活性は、PB, PCB, 3-MC 等の誘導剤の影響を受けず、Cytosol量にのみ比例していた。この増強活性は、70°CでCytosolを熱処理すると失活した。o-CNBとS9 mixとのPreincubation溶液を遠心(105000g)によって分画すると、上清(Cytosol)と沈澱(Microsomes)の両画分に弱い変異原性が認められるが、沈澱画分の変異原性は菌との接触時に新しいCytosol を添加すると10倍に上昇した。この上昇はNADPH生成系を加えても変化せず、Cytosolの変異原性増強活性はMicrosomesの代謝活性化の促進によるのではないと思われた。またPreincubation時のCytosolはむしろ失活的に作用した事から、変異原性増強活性は試験菌との接触時に、Cytosolが活性体のCarrierとして作用する事によるものと推測された。

各種のクロマト法を用いてこのCytosol中の変異原性増強因子の分離を試みたところ、Glutathione S-transferases (GST)の分離精製法として用いられるDEAE-cellulose (溶媒, 10mM Tris 緩衝液, pH 8.0)及びCM-cellulose (溶媒, 10mM リン酸 K 緩衝液, pH6.7)の各カラムクロマト(Jakoby et al., J.B.C. 249, (1974))に於て、増強因子はGST-D 又はEと同一挙動を取る事が確認され、Cytosolの変異原性増強作用にGSTの関与している事が示唆された。

P-72

1-ニトロピレン オキシドの生成の種差

西藤佳子, 木内武美, ○大西克成 (徳島大, 医, 細菌)

1-ニトロピレン (1-NP) は食品からも検出される高変異原物質であるので、生体内での代謝を調べてきた。これまでに、肝臓では主に酸化的代謝反応、アセチル化反応、抱合反応が、腸管内では還元反応、脱抱合反応が起こることを明らかにした。又、 $[^3\text{H}]$ 1-NP投与ラット胆汁中には1-NP 4,5-oxideがglutathione抱合体として排泄されることから、1-NP oxidesは肝臓における1-NP酸化的代謝活性化体だと考えられる。今回は、種々の実験動物で1-NP oxidesの生成活性を測定し、種差を検討した。

〔方法〕酵素反応液の組成は、50mM リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.4), 1mM NADPH, 1mM NADH, 2mM glucose 6-phosphate, 1 U/ml glucose 6-phosphate dehydrogenase, 3mM MgCl_2 , 0.5 mg/ml 肝臓microsome, $60\ \mu\text{M}$ $[^3\text{H}]$ 1-NPとし、epoxide hydrolase阻害剤であるtrichloropropane-oxide 1mMを添加した。37°C, 30分保温後、クロロホルムで抽出し、HPLCで分析、分取して液体シンチレーション法により測定した ^3H 量から1-NP 4,5-および9,10-oxideの生成量を求めた。肝臓microsomeは、雄のWistarラット, SDラット, ICRマウス, Syrian goldenハムスター, Hartleyモルモット, イヌから調製した。

〔結果・考察〕1-NP 4,5-oxide生成活性は、イヌ (65.0), モルモット (59.8±19.4 pmol/min/mg) で最も高く、次いでハムスター, SDラット, マウス, Wistarラットの順であり、イヌとWistarラットでは約26倍の差があった。1-NP 9,10-oxide生成活性は、ハムスター (32.2±8.7) で最も高く、次いでモルモット, SDラット, イヌ, マウス, Wistarラットの順であり、ハムスターとWistarラットでは約18倍の差があった。これらoxidesの生成量比 (4,5-/9,10-) は、ハムスターやSDラットでは0.48, 0.48であり、モルモットやイヌでは4.7, 10.4であった。以上のことから、1-NP 4,5-および9,10-oxideの生成活性、生成量比には種差のあることが明らかになった。1-NP 4,5-oxideの方が epoxide hydrolaseやglutathione S-transferase の作用を受けやすいという報告もあるので、これら性質の異なるoxidesの生成比が動物種によって異なっているのは興味深い。ヒト肝臓の1-NP oxide生成活性については現在検討中である。

P-73

(E)-および(Z)-アルカンジアゾヒドロキシドの変異原活性とアルキル化活性

○鶴川さと子, 飛田千恵, 望月正隆 (共立薬大)

発癌性N-ニトロソ化合物の究極的活性種であるアルカンジアゾヒドロキシド ($\text{R}-\text{N}=\text{N}-\text{OH}$) には、(E)体と(Z)体の二つの幾何異性体が存在する。4種のアルキル基 ($\text{R}=\text{Me}, \text{Et}, \text{Pr}, \text{Bu}$) の(E)体の塩と(Z)体の塩を用いて、これらの活性種のアルキル化活性と化学的安定性に及ぼす幾何異性とアルキル基の効果を検定し、突然変異原性との相関を検討した。

(E)体のカリウム塩は対応するN-ニトロソ-N-アルキルヒドラジンをカリウムメトキシド処理して合成し、(Z)体のカリウム塩は対応するN-ニトロソ-N-アルキル-p-トルエンスルホンアミドをカリウムエトキシド処理して合成した。変異原性試験は大腸菌WP2、WP2 her⁻、およびサルモネラTA1535を用い、S9 mixを使用しない直接的な活性を検定した。アルキル化活性の測定にはNBPを用いた従来法と、ニコチンアミドを用いた高速液クロ-蛍光定量法の両方を用いて比較検討した。

突然変異原性試験ではすべての菌において(E)体の方が(Z)体よりも活性が強かった。アルキル基による活性の違いは、大腸菌WP2ではエチル>プロピル>ブチル>メチルの順で、WP2 her⁻ではブチル>エチル>プロピル>メチルの順となり、サルモネラTA1535ではメチル>エチル>プロピル>ブチルの順に弱くなった。これらの活性の順序は各種のN-ニトロソ化合物の活性の順序と一致した。さらに幾何異性とアルキル基の相違も変異原性に大きく影響し、化学的安定性とアルキル化活性が生物活性の決定因子の一つであることが明らかとなった。

P-74

抗ラットP-450抗体を用いたショウジョウバエのP-450分子種の検索

- ° 宮田昌明¹⁾, 蒲谷京子¹⁾, 井上裕章¹⁾, 吉川邦衛¹⁾, 永田 清²⁾, 加藤隆一²⁾
(三菱化成, 総合研究所第2部門, 安全性研¹⁾, 慶応大・医²⁾)

各種の突然変異試験が同一の変異原物質に対し、相反する実験結果が得られた場合、それが代謝的活性化機構の差異に因るのか、または突然変異誘発機構の差異に因るのかを考察しなければならない。代謝的活性化は、現在細胞レベルの試験法ではラット肝S9画分の添加で行われているが、ショウジョウバエ、マウスなどの個体レベルの試験法では、その生物種がもっている独自の代謝系を利用することになる。代謝的活性化能力が前記の生物材料の間で異なる場合、その差異に依存した実験結果が提出される可能性がある。最近、ショウジョウバエの突然変異試験は極めて有益な情報を提供しているが、Ames試験、in vitro 染色体異常試験などの実験結果と整合性を考える際に、ショウジョウバエの薬物代謝酵素群の概要を明らかにする必要性が生じた。

PCB 前処理および無処理の雄ラットから、P-450b, P-448-H, P-448-L, P-450-maleおよび450gを精製し、ウサギを用いそれぞれの抗ラットP-450抗体を調製した。実験に用いたショウジョウバエ数系統のうち、殺虫剤抵抗性のHikone R系統は、ある種の薬物代謝活性が高いことが知られている。成虫および幼虫のホモジネイトの20,000 x g上清を110,000 x gで遠沈しmicrosome画分を得た。これをさらにhydroxyl-apatite カラムに吸着させた画分のCO差スペクトルを測定した結果、450nm付近にピークが示された。

抗ラットP-450抗体を用いたP-450分子種の検索は、SDS-PAGEを実施後、Western blottingを行い、抗ラットP-450抗体と反応後PAP染色を行った。その結果、3-MC誘導タイプの抗ラットP-448-L抗体と反応するバンドがHikone Rの成虫から検出された。その他の系統については現在検討中である。

P-75

抗突然変異物質バニリンのDNA組換え修復に対する作用
○渡辺三恵、太田敏博、白須泰彦（残留農薬研究所）

抗突然変異物質バニリンの作用機構についての検討を行った。4-NQO処理したWP2s(uvrA)株やCM611(uvrA,lexA)株の生存率はバニリンの後処理により著しく増加するが、CM571(recA)株ではこの増加が認められないことを前回報告した(Ohta et al., 1986)。このことから我々はバニリンがrecA依存性の組換え修復機能を促進しているとの仮説を立てた。しかし、4-NQOが菌体内で代謝活性化を受けてDNAと結合するまでの過程においてバニリンが多少の阻害作用を及ぼしている可能性、あるいはlexA(Ind⁻)株ではSOS修復の誘導はおこらないが、basal levelで発現しているumuC遺伝子産物がバニリンの効果に関与している可能性は完全に除かれてはいなかった。そこで今回は、UV照射した菌の生存率に対するバニリンの作用をumuC変異をもつ種類の菌株で検討した。UV照射した菌の生存率に対するバニリン後処理による回復作用は除去修復欠損株においてはTK610(umuC,uvrA)株やZA21(umuC,uvrA,lexA)株では認められたが、ZA31(umuC,uvrA,recA)株では認められなかった。しかし除去修復保持株においてはHM61(umuC),ZA44(umuC,recA),ZA71(umuC,lexA)の何れの株でも生存率の上昇は認められず、逆に減少する傾向が認められた。

一方、2種のプラスミドpATH4(Cm^r, Tc^s: tet遺伝子上のSalI siteにmutationを持つ)とpBMX7(Ap^r, Tc^s: tet遺伝子上のBamHIおよびSalI siteの2箇所にもutationを持つ)をTK610株及びZA21株に導入して細胞内での組換え反応によって生じるTc^r組換え体の出現頻度に対するバニリンの効果調べた。低濃度の4-NQOで処理したTK610株または、低線量のUV照射をしたZA21株をバニリン存在下で60~120分間培養した時、Tc^r組換え体の出現頻度は約1.5~2倍高くなったが、バニリンによる著しい増加は認められなかった。

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

P-76

構造的染色体異常誘発に対する *in vitro* および *in vivo* におけるバニリンの抑制作用

井上達生、○今西久子、佐々木有、渡辺三恵、太田敏博、白須泰彦（残留農薬研究所）

微生物を用いた研究により突然変異抑制因子として分離されたバニリンが、哺乳動物培養細胞においてMMCによる構造的染色体異常の誘発を抑制することを昨年の本学会で報告した。今回は、変異原物質による構造的染色体異常の誘発に対するバニリンの抑制作用について *in vitro* および *in vivo* において検討を行った結果について報告する。バニリンはMMCの他にもMMS、EMS、MNU、ENU、MNNG、ENNG、ブレオマイシン（BLM）、アクチノマイシンD、Trp-P-2、IQ、カフェイン、ベンツ(a)ピレンによる構造的染色体異常の誘発を、切断型構造的染色体異常を中心として抑制した。今回用いた変異原物質により様々なタイプのDNA損傷が誘発されるにもかかわらず、いずれの変異原物質による構造的染色体異常の誘発に対しても、主に切断型構造的染色体異常に対するバニリンの抑制作用が認められたことは、バニリンがDNA鎖切断の修復と何等かの関係を持っていることを示唆すると考えられた。BLMによるDNA単鎖切断がバニリン存在下で減少することも、以上の考察を支持するものである。また、食品添加物として用いられるバニリンが、食品中に含まれる変異原物質による構造的染色体異常の誘発に対しても抑制作用を示したことは興味深い。

構造的染色体異常誘発に対する *in vivo* におけるバニリンの抑制作用を検討するために、小核試験を行った。MMCを腹腔内投与したマウスにバニリンを経口投与したところ、MMCにより誘発される小核の頻度が約40%程度減少した。バニリンの小核誘発に対する抑制作用は、MMC投与の6 - 9時間後にバニリンを投与したときに最も顕著であった。以上の結果は、バニリンが *in vivo* においても構造的染色体異常誘発を抑制する可能性を示唆するものである。

P-77

SCEおよび構造的染色体異常誘発に対するタンニン酸の抑制作用

○佐々木有、今西久子、白須泰彦（残留農薬研究所）

微生物を用いた研究により突然変異抑制因子として分離されたバニリンが、哺乳動物培養細胞におけるMMCによるSCEの誘発頻度を増加させるのに対し、構造的染色体異常の誘発を逆に抑制することを昨年の本学会で報告した。今回は、バニリンとは別の作用機構での抗突然変異作用が知られているタンニン酸について、SCEおよび構造的染色体異常誘発頻度に対する作用について検討を行った結果について報告する。MMC、MMS、MNNGによるSCEの誘発頻度はタンニン酸の後処理によっての有意に減少した。また、タンニン酸はMMCによる構造的染色体異常の誘発を抑制したが、MMS、MNNGによる構造的染色体異常の誘発に対しては抑制効果がなかった。タンニン酸のSCEおよび構造的染色体異常に対するこれらの抑制効果は主としてG1期において認められるものであった。この結果は、G1期に保持した細胞においても、MMC、MNNGによるSCE頻度の有意な減少が認められたことによっても支持された。さらに、色素性乾皮症とファンコニー貧血症の患者由来の細胞を用いて、MMC、4NQOによるSCEの誘発に対するタンニン酸の作用を調べた。その結果、タンニン酸はファンコニー貧血症細胞においてはSCEを減少させたが、色素性乾皮症細胞においては抑制効果が認められなかった。この結果から、タンニン酸の作用は色素性乾皮症において欠損しているDNA修復系である除去修復機構と関わりがあることを示すものであると結論された。除去修復機構は、DNA損傷のDNA複製前修復系として働き、SCEあるいは構造的染色体異常の原因となるDNA損傷をDNA複製前に減少させると考えられている。したがって、タンニン酸のSCEおよび構造的染色体異常に対する抑制作用は、除去修復機能を修飾することによりDNA損傷のDNA複製前修復を促進することによると推定された。また、微生物を用いた研究によって、タンニン酸は除去修復活性を修飾することによってDNA複製前にDNA損傷を減少させ、結果的に突然変異誘発頻度の低下をもたらすことが示唆されている。今回、哺乳動物培養細胞において得られた結果は微生物において考えられている作用機構と一致するものである。

P-78

紫外線吸収剤および methyl sinapate の微生物、培養細胞における突然変異、SCE、染色体異常誘発増強作用
 ○下位香代子，岡田義秀，中村好志，野呂忠敬，富田勲（静岡県立大・薬）
 佐々木有，今西久子，白須泰彦（残留農薬研）

【目的】 大腸菌においてケイ皮酸メチルエステル誘導体である methyl sinapate (図1) がDNA除去修復機構に作用し、紫外線(UV)誘発突然変異を増強することを既に報告した(K. Shimoï et al., Mutation Res., 146, 15-22, 1985)。今回、UV吸収剤の突然変異増強作用をまず大腸菌において検索し、さらに methyl sinapate も含めてそれらの哺乳動物培養細胞における突然変異、SCE、染色体異常への影響について検討した。

【方法】 微生物としては E. coli B/r WP2 およびそのDNA除去修復欠損株 WP2suvrA を、哺乳動物培養細胞としてはチャイニーズハムスター V79 および CHO-K1 を用い、UV照射を行った後、試料を作用させ、各々、生存菌数と $\text{Irp}^- \rightarrow \text{Irp}^+$ の復帰変異体数、細胞生存率、コロニー形成率と6-チオグアニン耐性コロニー数(ソフトアガー法による)を計測した。また、CHO-K1 を MMC、UV処理後、試料を作用させ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・考察】 8種のUV吸収剤のうち、ケイ皮酸系の cinoxate (2-ethoxyethyl-p-methoxycinnamate、図2) に大腸菌においてUV誘発突然変異増強効果が認められた。しかしながら、この作用はDNA除去修復欠損株では認められなかった。一方、培養細胞において cinoxate は MMC 誘発 SCE 頻度を増加させ、methyl sinapate は SCE、染色体異常頻度いずれも増加させた。また、UVによる6-チオグアニン耐性突然変異誘発頻度も methyl sinapate の添加により増加傾向を示した。大腸菌の結果より、cinoxate や methyl sinapate は DNA 除去修復機構を阻害し、そのために突然変異増強作用を示すものと思われ、これらの作用が哺乳動物培養細胞においても働いていることが示唆された。従って、微生物から培養細胞まで共通に存在する機構に作用しているのではないかと考えられる。

図1, methyl sinapate

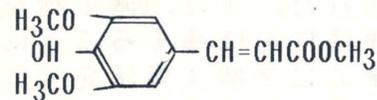
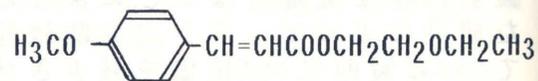


図2, cinoxate



P-79

カドミウムによる染色体異常誘発に対する過酸化水素前処理の影響，越智崇文（帝京大・薬・環境衛生）

発癌性金属カドミウム(Cd)による染色体異常誘発、DNA合成阻止、及び細胞増殖阻止作用が種々のラジカル捕捉剤により部分的に抑制されることから Cd の作用にラジカルが関与する可能性を示してきた。本研究では、Cd の作用に他のラジカル産生物質との共通性を見出す為の一つの試みとして Cd による染色体異常に対する過酸化水素(H₂O₂)前処理の影響を検討した。

(方法) 培養中国ハムスター V79 細胞(MEM + 10% FBS)を 0.02-0.2mM の H₂O₂ で 1 h 前処理した後 CdCl₂ (2 h), H₂O₂ (1 h), MNNG (2 h) で後処理し、再播種して生存率を、また正常培地で 18-20 h 培養した後 染色体異常を調べた。(結果) 1. H₂O₂ (0.05 mM) 単独処理により、添加後 5-15 分でアルカリ溶出法による DNA 切断を生じ、全 DNA の 70-80% が溶出されたが 1 h 後には正常レベルまで回復した。また細胞生存率及び染色体異常は対照と変らなかった。2. 0.02, 0.05mM H₂O₂ 前処理により、Cd (1, 2, 4x10⁻⁵M) による染色体異常は抑制され、その効果は低濃度の Cd の場合に顕著であった。一方、Cd による細胞毒性及び倍数性は影響されなかった。3. 0.05mM H₂O₂ 前処理は 0.2, 0.4 mM H₂O₂ による異常、各々 17%, 23% を 9%, 17% まで抑制した。一方、MNNG による異常には影響しなかった。4. 0.02-0.1 mM H₂O₂ 処理は細胞のカタラーゼ活性に影響を及ぼさなかった。以上の結果は、Cd の作用の一部に、MNNG には無い、H₂O₂ と共通した機構の存在を示唆するものであり、その機作については今後分子レベルの解析が必要と思われる。

○岩脇浩美, 伊藤正樹, 小木曾重文, 吉武 彬

住友化学工業(株)宝塚総合研究所安全性研究所

catechol, 3,4-dihydroxyphenylacetic acid あるいは caffeic acid 等のカテコール類¹⁾およびカテコールアミン誘導体である levodopa²⁾ は、in vitro染色体異常試験において代謝活性化系(S9 mix)非存在下で染色体異常誘発性を示す。これらのカテコールアミン類は化学的に不安定であり、染色体異常試験条件下で生成する酸化分解物が染色体異常誘発に関与していると考えられている。そこで、抗酸化作用をもつ L-アスコルビン酸について、levodopa, および類縁化合物である noradrenalin ならびに dopamineの染色体異常誘発性への影響を検討した。

levodopa, noradrenalin および dopamine はチャイニーズハムスター卵巣由来の培養細胞(CHO-K1)を用いた染色体異常試験において、S9 mix非存在下で有意に染色体異常を増加させた。しかし、L-アスコルビン酸を添加した系では levodopa, noradrenalin および dopamine の染色体異常誘発性は有効に抑制された。一方、mitomycin C の染色体異常誘発性は L-アスコルビン酸添加による影響をほとんど受けなかった。

また、HPLCでの定量分析によって、染色体異常試験条件下での levodopa の分解がL-アスコルビン酸添加によって有意に抑制されることが明らかにされた。これらの事実より、カテコールアミン類の染色体異常誘発性は培養液中で生成する酸化分解物に起因するものであり、levodopa, noradrenalin および dopamine 自体によるものではないと考えられる。

1) H. F. Stich, M. P. Rosin and W. P. Powrie; Cancer Lett., 14, 251-260 (1981)

2) 石館基 監修; 染色体異常試験データ集 P. 313 (1983)

古川秀之¹、河井一明¹、○高木優子¹、井上達生²、白須泰彦² (¹名城大・薬、 ²残留農薬研究所)

【目的】Drosophila wing spot testは遺伝子突然変異の他に染色体組み換えや欠損等、染色体レベルでの突然変異を観察できることが知られている。また、ある種のプロモーターの催奇性等の検出の可能性についても報じられている。よって Ames assayに比べて、より豊かな情報が得られると期待されるので、Trp-P-2やIQ等のアミン性変異原に対して、アスコルビン酸やデヒドロアスコルビン酸等のカルボニル構造を持ったビタミン類がどのように修飾を示すかを検討したい。

【実験】y; mwh jv系統の雌とy; flr³/TM2系統の雄を交配し、F₁個体を試験に用いた。投与は、エタノールに溶解した試料(Trp-P-2, IQ)1.5mMを加えた培地に3齢幼虫を移し、蛹になるまで摂食させて行った。さらにビタミン類の修飾作用を見る為に、アスコルビン酸またはデヒドロアスコルビン酸をTrp-P-2やIQにそれぞれ4.5mM混合した系についても同様に行った。投与用培地から羽化してきた成虫の翅を切除し、翅表面を顕微鏡で観察(400倍)レスポットを数えた。また、毒性の示標として殺虫性、発育の遅延等について観察した。尚、EMS(投与用培地に対し0.4%)についても上記と同様に試験を行った。

【結果・考察】Trp-P-2にアスコルビン酸を加えることにより雄の翅毛スポットの出現頻度が1.8倍になった。雌については著変を認めなかった。IQにアスコルビン酸を加えることにより、雄でスポットの出現頻度が1.6倍になった。雌は著変を認めなかった。IQにデヒドロアスコルビン酸を加えることにより、雌のスポット出現頻度が2.2倍になった。雄は著変を認めなかった。EMSについては、本実験条件では雌で若干羽化したのみで、雄は羽化しなかった。ヘテロサイクリックアミン類の変異原性に対するビタミン類の修飾作用については、性差があるように考えられる。尚、ビタミン類の変異原に対する量的な関係については、各種の濃度比段階で検討を必要とし、過酸化水素の生成に関する検討もあわせて行わなければならないと考えている。

P-82

化学変異原のSOS反応誘導機能に対する尿の修飾作用

○中村清一、沖 岩四郎、杉本寛治 (大阪府 公衛研)

唾液あるいは食品中のある種の成分には変異原活性を抑える働きがあることが知られている。我々は、尿にも抗変異原活性を予想させる SOS反応抑制作用のあることを見出した。そこで、今回はいくつかの変異原物質についてその物質のSOS反応の誘導性に対する尿の修飾作用をしらべ、さらに抑制成分の分離・精製を試みた。

〔実験方法〕 変異原物質の SOS反応誘導性と尿の SOS反応の抑制作用の測定はumu-テストの標準法を一部改変して行った。すなわち、一夜培養した試験菌をTGA培地で希釈、さらに培養し A_{600} が約 0.3に達した時、2 ml の菌液に 0.1 ml の溶媒に溶かした変異原物質と 0.5 ml の尿を加え 37 °C で 2時間振とう培養した。培養後、菌液を遠沈し、上清を除いたのち、沈さ(菌)を 2.5 ml の生理的食塩水に懸濁し、一部で菌に産生されたβ-ガラクトシダーゼ活性を、残りで菌濃度 (A_{600}) を測定した。

〔実験結果〕 尿を添加することによりAF-2により誘導される SOS反応が抑制された。この抑制効果は添加する尿量に従い変化した。抑制作用はAF-2のほかB(a)P, Daunomycin, 4NQO でも見られたが、2AA ではその抑制作用は小さく、Aflatoxin B₁, MNNGでは抑制作用は見られなかった。AF-2により誘導される SOS反応に対する抑制効果は、0~4 °C で一年間保存した尿でもみられた。また、尿をオートクレーブ処理 (120 °C・15分間) しても抑制効果は変わらず尿の抑制成分が比較的安定した物質であることがわかった。この抑制成分は透析膜を通過し、またイオン交換樹脂には吸着されなかった。

P-83

umu-lac 融合遺伝子を用いた変異原検出系(VII)

—クルクミンによるSOS反応抑制作用—

○小田美光、中村清一、沖 岩四郎(大阪府立公衛研)

(目的) 我々は、umu-テストを用いて種々の変異原物質がSOS反応を誘導することを本学会で報告してきた。今回、umu-テストが抗変異原因子の検出に通用できるのかを検討するため、本研究では、現在天然着色料としてよく使用されているウコンの黄色色素の主成分であるクルクミンが紫外線や変異原物質によるSOS反応誘発(umuc遺伝子発現)を抑制するのかをumu-テストで調べた。

(方法および結果) 対数増殖期の細胞にUV照射あるいは、変異原物質を処理しクルクミン存在下で120分間培養した後、β-ガラクトシダーゼ活性を測定した。その結果、クルクミンは、濃度(1~10 μg/ml)に依存してumuc遺伝子発現を明らかに抑制した。その強さは、UV ≫ 4-NQO > MMS > AF-2 > MNNGの順であった。一方、クルクミンは、MMCによるumuc遺伝子発現を抑制しなかった。また、SOS反応の1つであるプロフェージ誘発テストにおいて、クルクミンはUVによるプロフェージ誘発に対して抑制効果を示した。

以上の結果から、クルクミンは、特に紫外線およびその類似化合物によるSOS反応を抑制することが明らかとなった。

P-84

たばこ煙変異原物質の吸着除去材に関する研究

西川琢人・○金田 齊・楠慎一郎（アドバンス・生命科学研究所）

目的： たばこの喫煙と健康の因果関係について多くの議論がある。たばこ煙粒子相に強い変異原性が認められる事実から、喫煙に際してたばこ煙中の変異原物質を効率良く吸着除去できるたばこ用フィルター材の開発は重要である。一方、新素材のさまざまな有効利用の提案がなされているが、たばこ用フィルター材への応用研究は比較的少ない。今回、我々は、いくつかの素材の中から結晶セルロースがたばこ用フィルター材としてすぐれた機能を持つことを明らかにしたので報告する。

方法： 結晶セルロース等の試料を細かく切断したアセテート繊維に分散させ、市販のマイルドセブンのたばこ本体とアセテート繊維製フィルター間のチャコールフィルターを除いた空間に充填した。このフィルター付たばこを自動喫煙装置を用い、吸煙した。たばこフィルターを通過した煙粒子はガラスフィルター（Whatman GF/C）上にたばこ煙凝集物（CSC）として回収され、DMSOで溶出して、Amesテスト（TA98, +S9）で変異原活性を測定した。種々の試料を含むフィルターを使用した時のCSCの重量が必ずしも総変異原活性と相関しないので、今回の試料の評価はすべてCSCの総変異原活性で行った。

結果： 種々の素材をアセテート繊維に混合して調べた結果、結晶セルロースの微粒子（平均粒径10 μ m）にすぐれた変異原除去効果のあることが分かった。また、結晶セルロースの変異原除去効果を高めるために、ヘミン染色等の修飾をした結晶セルロースをアセテート繊維製フィルター（2cm）に均一に分散して調べたところ、素材3mgで約30%、6mgで約50%までCSCの総変異原活性が低下した。さらにこの素材にはCSCの比変異原活性を10~20%低下させる効果があった。

P-85

N-ニトロソ化合物の直接的な変異原性を抑制する因子の検討

○武田啓、小泉慶子、望月正隆（共立薬大）

変異原性活性を抑制する因子を解明することは、発癌を予防する上で重要である。代謝活性化を必要としない変異原性を脂肪酸が抑制することはすでに報告した。この機構は変異原と脂肪酸の直接作用ではなく、脂肪酸が変異原の分配率を変化させることから膜透過を阻害するためと考えた。今回はこの機構の一般性を調べるために、直鎖のアルキルアミンとアルカンスルホン酸ナトリウムを選び、分配率の変化と変異原性の抑制を検討した。

変異原としてはニトロソアルキル尿素およびニトロソジアルキルアミンの活性体である α -ヒドロペルオキシ体を用いた。変異原活性は、サルモネラTA1535、大腸菌WP2hcr-に対する直接的活性を指標とした。抑制因子としては脂肪酸に加えてアルキルアミン類とアルカンスルホン酸塩を用いた。

アルキルアミンはニトロソアルキル尿素と α -ヒドロペルオキシ体の変異原性を脂肪酸と同程度に抑制した。一方、アルカンスルホン酸塩は α -ヒドロペルオキシ体の変異原性を強く抑制したがニトロソアルキル尿素に対しての抑制は弱かった。脂肪酸とアルキルアミンではアルキル基の長さも抑制の強さに影響し、長い方が変異原性をより強く抑制した。分配係数はリン酸緩衝液中に比べ、脂肪酸およびアルキルアミンの添加で減少したが、アルカンスルホン酸ナトリウムの添加では減少はみられなかった。変異原の分解速度はこれらの化合物の添加で差がなかった。脂肪酸およびアルキルアミンでは菌膜上で変異原の油/水分分配率を変化させて取込みを抑制することが一原因ではあるが、それだけでは説明できない因子の存在が示唆された。

セレンは微量栄養素として知られてきたが、最近、抗ガン作用が注目され、疫学的にも土壤中のセレン濃度の高い地域では、ガン発生率が低いことが証明されている。しかしその機構は未だ不明である。従ってその抗変異原性が注目されるが、すでに、DMBAやAAFで誘発される微生物の突然変異に対して、セレン化合物が抑制効果を示すという報告がある。

我々は前回、ヒ素化合物の抗変異原性とその機構について報告したが、引続き今回は、 H_2SeO_4 、 Na_2SeO_4 、 H_2SeO_3 、 Na_2SeO_3 、 Se_2O_2 の各セレン化合物が、紫外線や化学変異原で誘発される細胞の突然変異に対して、明らかな抗変異原性を示すことを見いだしたので、その結果について報告する。

紫外線照射またはMNNG処理された大腸菌WP2uvrA/pKM101を適当な濃度の各セレン化合物を含むSEMプレート上で培養し、生じた突然変異コロニー数を計数した。この結果、各セレン化合物を含むプレートでは、いずれも誘発突然変異のコロニー数はコントロールに対して明らかに減少した。特に Na_2SeO_3 は、AF-2、4NQO、MMS、EMS、ENNGによる誘発突然変異に対しても抑制効果を示した。umuC欠損株の場合でもMNNG誘発突然変異を抑制した。また紫外線照射された細胞をSEMプレート上で3時間培養した後に Na_2SeO_3 を添加した場合でも、復帰変異コロニー数が減少した。

またサルモネラ菌TA1535/pSK1002を用いて、紫外線およびMNNG誘発umuC発現を調べたところ、セレン化合物の添加は明らかに抑制効果を示した。

これらの結果から、セレン化合物は突然変異抑制因子 (Mutation-inhibitor) として働くことは明らかであるが、さらにこの抑制効果の機構についても考察する。

核磁気共鳴装置 (NMR) やリニアモーターカー (磁気浮上鉄道) など強磁場発生装置が次々と開発され広く応用されるに伴い、これら取扱い作業者は勿論のこと、一般の人々の暴露もあり得ることから、近年磁場の生体への影響が論じられている。にもかかわらず磁場の生物学的作用は、まだ十分な研究がなされていない。我々は、Ames test に用いるサルモネラ菌を用いて磁場の突然変異に対する影響を検討したので報告する。

《方法》(1) 強磁場のサルモネラ菌に対する作用をみるための実験：磁場発生装置は、日本電子 NMR-GSX500 (磁場強度：11.75T、ボア径 52mm) を用いた。滅菌 NMR 試験管に *S.typhimurium* TA98 又は TA100 を入れ、室温にて 20分および 60分間磁場に暴露した後、通常の Ames test を行った。

(2) 変異原物質共存下での突然変異誘発能に与える影響をみるための実験：日本電子 NMR-GSX270 (磁場強度：6.35T、ボア径 54mm) を用いた。滅菌 NMR 試験管に TA98 又は TA100 の菌液 0.1ml、Na-リン酸緩衝液又は S9Mix の 0.3ml、0.5mM His・Bio 溶液 0.2ml、被験物質として AF-2 又は benzo(a)pyrene (BaP) 0.1ml の割合で、磁場暴露直前に混合し、37°C、20分間暴露した。暴露後、混合液 0.7ml に soft agar 2ml (His・Bio 含まず) を加え、plate に播き 48時間後カウントした。対照群には被験物質を加えないものを用いた。

《結果と考察》(1) TA98、TA100 に対して、11.75T の強磁場は、S9Mix の有無にかかわらず、変異原性に対する影響は認められなかった。また、生菌数に対する影響も認められなかった。(2) TA98、TA100 ともに変異原物質共存下で、6.35T の磁場暴露により変異原性抑制効果が認められた [TA98 AF-2 (0.05 μ g/plate) で対照値の約 1/4 に減少、TA100 BaP (2.5 μ g/plate) で対照値の約 1/2 に減少]。以上の結果より、変異原性抑制効果がどのようなメカニズムによるのかを研究するべく、我々は今後、時間因子、磁場強度因子等を変えて更に検討を加える。

中国産中草薬の抗変異原性

孟正木¹, 坂井至通², 小瀬洋喜³, 佐藤孝彦³永瀬久光³, 鬼頭英明³, 松田浩明³, 佐藤元泰³, 水野瑞夫³(中国薬科大学¹, 岐阜県衛研², 岐阜薬大³)

天然に存在する抗変異原性物質に対する研究のうち、植物成分に関するものは、その有効成分について報告されたものも少なくない。最近、Ishii¹⁾及び三枝ら²⁾は、日本産植物の各々211種及び70種の物につき、抗変異原物質のスクリーニング試験を行い、その有効性を数種のものについて認めている。演者らも水生植物中に有効な成分を有するものを認めて報告した。本報では、中国産中草薬を対象とし、中医用薬において「扶正固本」の理論に基づき用いられているものを選んだ。扶正固本とは、強壯、補気、補陰、壯陽、活血化瘀、清熱解毒などの効能を持つものである。これらの中国産中草薬53種を選びその抗変異原性試験を行った。検体としては、中草薬各50gを取り、水煎或いは19ノール還流後濾別し、濃縮してエキスとした。抗変異原性試験には、*S. typhimurium* TA98を用いS9mixを添加して行った。試量5-10mg、B(a)P 5ug、S-9mix0.5mlを混合し、培養後の復帰突然変異菌数に対する影響を見た。MM培地を用い、生菌数に対する影響も合わせて検討した。その結果、抗変異原活性の極めて強いもの13種、抗変異原活性を認めたもの6種であった。特に強い効果を認めたものは、三角泡、女貞子、鶏血藤、三加皮、青凡木、白背葉、野鴨椿、玉竹、無根藤、芡実、赤芍、金櫻子であった。

1) R. Ishii, et al: Agri. Biol. Chem. 48(10)2587-2591, 1984

2) 三枝ら: 第15回日本環境変異学会, p86, 1986

Salmonella typhimurium SD100 による各種野菜の抗変異原性の検索○江幡淳子¹・古御門礼子¹・丸川澄子²

(1)大阪市大・生活科学, (2)福井大・教育)

目的: 野菜類には変異原性を不活性化作用のあることが知られているが、葉菜類、茎菜類、果菜類、花菜類、根菜類およびいも類における抑制作用の分布を調べ、併せてその採取時期や保存期間が抑制効果に及ぼす影響について検討した。

方法: 野菜試料は奈良県農業試験場高原分場より提供されたもので、栽培条件が明らかなものである。採取後、2-3日以内の新鮮な野菜を洗浄して、1-2倍量の水を加えてホモジェナイズし、これを低温下で吸引濾過して濾液と残渣に分け、それぞれを抗変異原性被検試料とした。抗変異原性の測定は、AF2液(0.3μg含有)に被検試料(生材料の0.5g相当量)を加えて、37℃、30分作用させた後加熱処理して*Salmonella typhimurium* SD100株による変異原活性を測定し、この変異コロニー数と、AF2のみの対照の変異コロニー数との差から野菜処理によって減少した変異コロニー数を求めた。抗変異原性の強さは、これのAF2による変異コロニー数に対する割合で示した。

結果: 野菜の部位別に見ると、全体として葉の残渣の抑制率が高かった。葉は一般に繊維が多いことから、繊維への物理的吸着ではないかと考えられた。分類別にみると、根菜類、葉菜類、茎菜類および花菜類の抑制率に比べて果菜類の抽出液の抑制率が低かった。しかし果菜類のなかでカボチャの抽出液は例外的に高かった。同種で、同一条件で栽培された場合でも収穫時期が異なると抑制率も変わることが、ナスやゴボウについて観察された。ナスは旬の7月に収穫されたものは旬の終わった9月に収穫されたものよりも抑制率が高く、ゴボウは、6月に収穫した若いものより7月に収穫したものが、抽出液、残渣ともに高い抑制率を示した。保存による野菜の抗変異原性への影響は、残渣においては、あまり変化がなかったが、抽出液では大きく減少した。抽出液のAF2に対する最適作用温度は35-40℃で、最適作用pHは6.5であった。また加熱処理後の抽出液は抗変異原性を示さなかったため、抽出液の変異原抑制効果は酵素反応によるものと推定された。残渣の抗変異原性はAF2に対する作用時間の影響をあまり受けなかったため、物理的吸着によるものと考えた。残渣からNDF法で抽出されなかった繊維(NDF)画分にも変異原抑制作用が認められたことから物理的吸着の効果があることは明かであった。

P-90

ナス(*Solanum melongena* L.)抽出液の抗変異原性

○川崎 祐子¹、玉置 日出夫¹、布柴 達男²、西岡 一²
(同志社女子大・家政¹、同志社大・生化研²)

野菜、緑茶、生薬などの中に抗変異原性を示すものが存在することが明かとなり、その機構や変異原/発ガン物質からの防御における役割が注目されている。抗変異原性は、変異原不活化因子(Mutagen-inactivator)と突然変異抑制因子(Mutation-inhibitor)に大別できるが、これまでに知られた野菜類の抗変異原性の多くは前者である。今回、我々はナス抽出液が大腸菌のUVまたは化学変異原による誘発突然変異を明瞭に抑制することを見だし、その活性成分およびその機構について検討したので報告する。

ナスをその重量と同量の蒸留水と共にホモジナイズし、遠心分離の上清を抽出液として用いた。UV照射または変異原処理した大腸菌WP2またはWP2uvrAにナス抽出液を加え、37°Cで30分間保持した後、SEMプレートにまき、誘発されたTrp⁺復帰突然変異のコロニー数への影響を調べた。

この結果、ナス抽出液はWP2の突然変異を明瞭に抑制するが、WP2uvrAに対してはそのような効果は認められなかった。この突然変異抑制因子の活性成分を限外ろ過膜によって分離することによって、活性物質は分子量500未満であると推定された。また、熱、pH、有機溶媒に安定であった。

また、ナス抽出液のSOS反応への作用を調べるため大腸菌KY700/pSK1002およびKY706/pSK1002を用いて、umuC遺伝子発現の程度を測定したが、何れの場合にも有為な効果は認められなかった。

この結果は、ナス抽出液の抗変異原性は組換え修復やSOS修復には関与していないことを示唆している。また、除去修復を促進している可能性が考えられるので、更に検討を進めている。

P-91

抗ガン剤の抗変異原性

布柴 達男、佐藤 まゆみ、○西岡 一(同志社大学・生化研)

現在使用されている各種の抗ガン剤の作用機作については、一部に明らかなものもあるが、まだ不明なものも多い。また、DNAに作用し、変異原性を示すものがあることも知られている。

一方、環境変異原研究の過程で、物質の新しい性質として抗変異原性が注目されてきた。抗変異原性は変異原不活化因子(Mutagen-inactivator)と突然変異抑制因子(Mutation-inhibitor)に大別できる。これまでに突然変異抑制因子としてスクリーニングされた抗変異原性物質、例えば、緑茶やタンニンなどには抗ガン性があるという報告もある。また本大会で、我々はセレン化合物の抗変異原性を報告するが、セレン化合物には抗ガン性が知られ、土壤中のセレン濃度の高い地域ではガン発生率が低いことが疫学的にも証明されている。そこで今回は各種の抗ガン剤の抗変異原性に関して検討した。

使用した抗ガン剤は、SSM(丸山ワクチン)、レンチナン、クレスチンなど十数種である。UV照射した大腸菌WP2uvrA/pkM101を各種抗ガン剤の溶液と混合した後、soft agarとともにSEM agar plateに固定した。2日間、37°Cで培養した後、Trp⁺への復帰変異コロニー数の変化を調べた。その結果、5FUやフトラフルなどでは、生菌数に影響しない濃度で、Trp⁺への復帰変異コロニー数を有意に減少させ、突然変異抑制作用の明瞭な量効果関係を示した。また、同時に、umuC-lacZ融合遺伝子を用いた系でSOS誘発抑制効果についても検討した。

これらの結果から、ある種の抗ガン剤は抗変異原性を有しており、これがその作用機作にかかわっている可能性が示唆された。

口 演

10月27日午前の部 (9:30~12:00)

0-1 ~ 0-11.....119~129ページ

10月27日午後の部 (13:00~15:00)

0-12 ~ 0-20.....130~138ページ

10月28日午前の部 (9:00~12:00)

0-21 ~ 0-34.....139~152ページ

0-1

河川水の変異原活性の測定

○阪本 博¹⁾、早津聰子²⁾、早津彦哉²⁾
(岡山市水道局¹⁾、岡山大・薬²⁾)

【目的】 blue cottonを河川水に浸すことにより、川の流れを利用して、大量の水からの変異原物質の回収が可能である (blue cotton 法)。また、blue cellulose powderを用いてカラムを作成し、このカラムに一定量の河川水を通過させ、変異原物質の濃縮を行うことができる (blue cellulose column 法)。岡山市を流れる旭川について、上流から河口までの多くの地点で、このblue cotton 法とblue cellulose column 法により河川水の変異原活性を調べた。さらに非晶質レーヨンに銅フタロシアニン誘導体を結合させた吸着剤 (blue rayon) を開発し、これを使用して河川水中の変異原物質の回収を検討した。

【方法】 (blue cotton 法、blue rayon 法) ネットにblue cotton あるいはblue rayon 1g を入れ、重りを付けて川の中に吊し、24時間後に回収した。溶出は、メタノール-濃アンモニア水 (50:1) で行った。溶出液は減圧下蒸発させたのち、残渣をDMSOに溶かし、Ames試験 (TA98,+S9) を行った。

(blue cellulose column 法) blue cellulose powder 0.2g を詰めたカラムを作り、河川水5ℓを通過させ、吸着操作を行った。ヒスチジンの吸着を避けるため、河川水はあらかじめ2%食塩濃度とした。溶出は、80%メタノール-濃アンモニア水 (1000:1) で行った。溶出後の操作は前記と同様である。

【結果】 blue cotton 法による変異原活性の測定結果では、岡山市のほぼ中央を貫流して児島湾に注ぐ旭川の市街地中部付近より有意な変異原活性が検出され、下流に行くに従って高くなる傾向が認められた (最高 His⁺ rev. 2429)。しかし市街地の上流では、有意な変異原活性は認められなかった。blue cellulose column 法による結果でも、blue cotton法と同様な傾向が認められた (最高 His⁺ rev. 650)。また、blue cellulose column 法では、カラムを通過させる河川水の量に応じて、dose response が見られた。一方、blue rayon 法でも、blue cotton 法と同様に河川水からの効果的な変異原物質の回収が可能であった。

O-2

大気中粒子状物質の変異原性 (第1報)

○真鍋 芳樹, 朝倉 正登, 後藤 敦, 実成 文彦, 中島 泰知

(香川医科大, 人間環境医学)

【目的】大気中粒子状物質の変異原性を1年間に亘り調査検討したので報告する。

【方法】1986年4月から1年間香川医大屋上(地上約40m, 海拔約80m)にてhigh-volume air samplerを用いて大気中粒子状物質を捕集し, benzene:ethanol(4:1)で超音波抽出し, 溶媒溜去後, Ames法により変異原性を測定した。同時に変異原物質の分析も併せて行った。1986.8.20 10:40m

【結果・考察】大気 1m³ あたりの捕集粒子状物質量は 20.33~80.31 μgであり, 抽出物 1mg あたりの変異原性は, TA98(-)S9で 790~3330, TA98(+)S9で 1280~4050, TA100(-)S9で 510~2135, TA100(+)S9で 705~2180であった。また, 大気 1m³ あたりの変異原性は, TA98(-)S9で 7.1~52.9, TA98(+)S9で 11.5~46.6, TA100(-)S9で 4.2~46.3, TA100(+)S9で 5.8~47.2であった。さらに, benzo(a)pyrene(B(a)P)の量は大気 1m³ あたり 0.01~1.89ng であった。これらの結果から大気中粒子状物質の変異原性及びB(a)P量ともに月によって大きく変動していることが判明した。大都市における結果と比較すると, 本調査試料は大気 1m³ あたりの捕集粒子状物質量は少ないが, 抽出物 1mg あたりの変異原性は高いことも判明した。

粗抽出物を diethyl ether 溶性の中性・酸性・塩基性画分に分画してその変異原性を測定した。最大の変異原性を示す画分が月によって異なり変異原物質も月によってその組成が変化していることが示唆された。

高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で分画・分取して変異原性を測定すると, 代表的な変異原物質溶出帯ではなく, 極性物質溶出帯に高い変異原性があった。

なお, 捕集点から約 1km 離れた所で不定期(月 3,4 回)に廃棄物の焼却を行っているので, この点を考慮しながら, 今後長期に亘り調査検討する予定である。また, HPLCの極性物質溶出帯に高い変異原性が認められたのでこの画分に含まれる変異原物質の分析も行う予定である。

TA98(+)S9 100% 100% 100% 100% 100%
100% 100% 100% 100% 100%

killig 100% HPLC recovery 4 - 70%
killig 100% HPLC recovery 4 - 70%

O-3

自動車排出ガス中の変異原性について

○佐々木裕子, 大山謙一, 遠藤立一, 川原浩, 泉川碩雄*
(東京都環境科学研究所 保健部, 大気部*)

前年に引き続きディーゼルエンジン排出ガス中の高活性変異原物質の検索を行った。ディーゼルエンジンを定速駆動(40km/h)させ、排出された粉じんを検体とした。粉じんはベンゼン-エタノール抽出後、Ames Test、液々分配、カラムクロマトにより高変異原活性画分を得た。同画分はGC-MSの結果により、含酸素化合物(Fluorenone)および含窒素化合物(Quinoxalin, Phenazine, Cinnolineの誘導体等)が検出された。

そこで、検出された物質および類似物質のうち市販の7種(Benzo-(c)cinnoline, 9-Fluorenone, Phenazine, 7,8-Benzoquinoline, 5,6-Benzoquinoline, Neocuproin, Quinoxaline)について変異原性を検討したが、いずれも変異原性は認められなかった。次にこれら物質にHNO₃-CH₃COOH(1:1, V/V)を加え、室温暗所に24時間置き、ニトロ化を試みた。その結果、ニトロ化されたと考えられる7,8-benzoquinoline, 5,6-Benzoquinoline, 9-Fluorenone, Quinoxalinの4種に高い変異原性が認められ、特にS9 mix 無添加の方が変異原性が高かった。また、TA98株S9 mix 無添加の変異原性も、TA98NR株、TA98/1.8DNPs株で変異原性の低下が見られた。

ディーゼル車の高い変異原性の原因物質についてはニトロアレン類が注目されているが、ニトロアレン等既知の変異原物質だけではその活性は説明しきれない。本結果により、ニトロ化したアゾアレン類などもその活性に寄与していると考えられる。

ニトロ化-20% 40% 60% 80% 100%
killig 100% HPLC recovery 4 - 70%
killig 100% HPLC recovery 4 - 70%

O-4

変異原性物質の極微弱発光とその性質

○長田和実、木村修一、(東北大農学部、栄養化学)

1 (目的) 多くの変異原物質は、細胞内のミクロソーム分画等に存在する薬物代謝酵素系すなわちチトクローム p450 やエポキシドヒドラーゼ等により代謝され、究極発癌物質となり変異原性を発揮する。またそれらの過程において、幾つかの変異原物質はその化学的ポテンシャルを極微弱発光の形で現すことが知られている。そこで本研究では、この極微弱発光と変異原性との相関関係を明らかにすることを目的とし、変異原物質および S-9mix の酵素量と発光の関係について検討した。またこの場合の発光の条件ならびにこの反応における中間代謝についても検討した。

2 (方法) S-9fraction は矢作等の方法に準じて作成した。変異原物質としては芳香族炭化水素の変異原物質であるベンツピレン、3-メチルコラントレン、を主に用い、レシチン-コレステロールによるリポソームに組み込んだものを調製した。変異原物質を含むリポソームに S-9fraction を加え、さらに NADPH 等の Cofactor を含んだリン酸緩衝液を暗所で混合し Chemiluminescence Analyser OX-71 (東北電子産業) を用いて発光を測定した。また中間代謝物の検索は HPLC (HITACHI 655A-11), Bondasphere C-18 カラムを用いて行った。

3 (結果) Cofactor は NADPH のみでも十分であることが分かった。またベンツピレン、メチルコラントレンは共に S-9mix 系により、ある程度定量的に検出可能であることが分かった。またこれらの極微弱発光に伴いベンツピレンは経時的に代謝され、それに代って少なくとも七種類の代謝物が現れることがわかった。またこれらの極微弱発光は変異原性のないものでは検出されず、変異原物質に特有の物であることが示唆された。



発光の経時変化
Blm, NADPH, 3MC, SW

発光の経時変化
発光の経時変化

発光の経時変化

発光の経時変化
発光の経時変化

O-5

アクリルアミド：形態転換、染色体異常、DNA 傷害の誘発

○津田弘久、清水千瑛子、武富真子、長谷川真樹子、浜田淳、宮永久美子、乾直道
(日本たばこ、中研、生物実験センター)

アクリルアミドは、電気泳動用ゲルの材料として、研究者になじみ深い物質であり、神経毒としても知られる。構造が発癌剤のビニルカーバメート、エチルカーバメートに類似していることから、発癌性、変異原性が予想された。1984年、マウスの皮膚、肺に腫瘍を形成する一方、エームテストでは、陰性である事が報告された。さらに、アクリルアミドは、2'-デオキシヌクレオチド及び DNA に、ミカエル付加により、常温で付加体を形成する。しかしながら、遺伝毒性に関して、特に *in vitro* での報告は少ない。我々は、この物質の変異原性を種々のテスト系で検討した。用いた系は、サルモネラ菌 (TA98, TA100, TA1535, TA1537) 及び大腸菌 (WP2uvrA-) での復帰突然変異、枯草菌での DNA 修復テスト (Rec assay)、培養 V79 細胞における染色体異常、姉妹染色分体交換 (SCE)、及び 6-チオグアニン耐性突然変異、さらに、BALB/c 3T3 細胞における形態転換である。その結果、細菌での復帰突然変異は、すべて陰性 (0.5~50mg/プレート, S9±)、また、V79 細胞での突然変異も陰性 (1~7mM, 24時間処理) であった。一方、Rec assay (10~50mg/ディスク, S9±)、染色体異常 (3~5mM, 24時間処理)、SCE (1~2.5mM, 24時間処理)、及び BALB/c 3T3 細胞での形態転換 (1~2mM, 72時間処理) は、明らかに陽性であった。以上、アクリルアミドが、エームテストと発癌性テストとの不一致の一例であることを確認し、さらに、点突然変異以外の4つの変異原性テスト系で陽性を示すことを明らかにした。

O-6

化学変異原の継世代的影響—マウス催奇形変異

○野村大成、木田誠子、村上佳子、岡本百代（大阪大、医）、後藤博子（佐保女短、家政）、中島裕夫（摂南大、安全研）

放射線や化学物質が、生殖細胞に作用すると子孫に突然変異が誘発されることはよく知られている。がん、奇形に関しても、その可能性が、野村により示された。今回は、X線および化学変異原の曝露による子孫での奇形発生について重点的にまとめた。その結果は、以下のとおりである。

1. X線を父または母マウスに照射すると、通常のマウス突然変異の4-40倍の頻度でF₁に奇形が誘発された。精原細胞期照射では、F₁に奇形は誘発されにくいとかつて報告したが、より詳細な実験により、低率ながら、線量に比例してF₁に奇形が誘発され、その倍加線量（27 rad）は、通常のマウス突然変異と同じであった。
2. ENU、ウレタンによっても、投与量に比例してF₁に奇形が誘発された。特にENUは、X線、ウレタンと異なり精原細胞期に作用させると、F₁に高率に奇形が発生した。この結果は、Russellによる特定座位劣性突然変異の結果とよく一致する。
3. 4NQO、DMBAによってもF₁での奇形発生率は増加したが、AF-2では有意の差はなかった。
4. 誘発された奇形のうち生存可能なもの、即ち、小人症、眼瞼開裂、尾の奇形は、低侵透率であるが、次世代に優性に遺伝した。
（文部省科学研究費および日産科学助成金による）。

spontaneous or from
carcinoma specific

O-7

メチル化剤高感受性 Sd-E.Coli B(TC) 菌の性状と応用

下平 富子（国立衛試、微生物）

TC-Plasmid (pIS71) を感染させて得たメチル化剤高感受性菌 Sd-4c(TC) の mutagenesis は MNNG 5μM, MNU 50μM, MMS 5mM で Sd-4cの 50-100 倍であるが、生存率は 70-100% で Sd-4c よりむしろ高く、強い SOS 反応の上昇を示唆する。アルキル化剤感受性変異の機構としては ada gene の損傷が確認されているので、Sd-4c を対照として Adaptation Test を行なった結果は Sd-4c(TC) のみならず Sd-4c にも Adaptation 効果が見られず、また他の Sd-E.coli B 株にも見られなかった。

E.coli B(TC) から SM-依存性にした Sd-B(TC), Sd-511 もメチル化剤に感受性であるが、Sd-B(TC) は低く Sd-511 は Sd-4c(TC) とほぼ等しい。

我々は、先に Sd-B(TC) を用いて赤血球による MNNG の不活化を認めたが、Sd-4c(TC) で追試すると、MNNG の不活化は短時間で、血球の濃度に依存し、MNU の不活化は一定の濃度の赤血球で反応時間に依存することが認められた。

アルキル化剤の変異実験で M9 buffer が使用されている例が多いが、MNU の変異活性は phosphate buffer との前処理で著しく減少することが認められた。MNU の吸光度の減少でも観察されるが、変異活性では 1/100 の MNU 濃度で高い活性をしめすため高感度に影響を見ることが出来る。試験したうちでは cacodylate buffer がよく活性を保った。

Furcutuation test では Mitomycine C, 0.002μg/ml, で明確に変異活性が見られる。Sd-E.coli 菌を用いる試験ではアミノ酸の関与がなく、変異形成のために培地に微量の変異選択剤を必要とせず、TC を添加できるので Furcutuation test には有利性があり検討中である。

BTD-lactose

mutagen in

SPC

0-8

ショウジョウバエを用いた近紫外光の変異原性検出とソラレンの影響

○根岸友恵、早津彦哉（岡山大・薬）

最近、近紫外光(340~400 nm)の、生体に対する影響が注目され、生物作用について研究がなされつつある。細菌や培養細胞については、致死作用や変異原性が報告されている例があるが、今回我々は、個体レベルでの作用を見るために、ショウジョウバエを用いて、DNA損傷作用と変異原性を検討した。

DNA損傷作用は、雄が常に修復能欠損となる株を用いて調べた。この系では、修復可能な損傷をDNA上に受けた場合、雄は致死となるが、雌は成虫となりうるので、雌雄の数比のひずみで、損傷作用を検出することができる。変異原性は翅毛スポットテストを用い、成虫の翅毛に現われる体細胞突然変異を観察した。いずれの場合も、プラスチックシャーレに入れた3令幼虫に、厚さ6mmの軟質ガラスを通して、ブラックライトを照射した(波長320nm以上、強さ約6W/m²)。

近紫外光を24時間まで照射し続けたところ、DNA損傷作用は、検出されなかったが、変異原性は、照射量に応じて上昇した。この時、光増感剤として知られる8-methoxypsoraleneを50μM添加して照射すると、非常に強い変異原性が観察された。20時間照射の場合、無添加に比べて、Small single spotで2.5倍、Large single spotで10倍、Twin spotで18倍にもなった。またDNA損傷作用も現われ、6.7μMの添加で雄/雌の比は0.4となった。照射しなかった場合は、変異原性もDNA損傷作用も検出されなかった。ソラレン存在下近紫外光照射の翅毛スポットテストの結果は、染色体組換えが高い頻度でおこっていることを示しており、ソラレンが光存在下DNA間の架橋を形成することと、関係があると思われる。

0-9

コーヒー中のヘテロサイクリックアミン様変異原

○高橋伸也、加藤哲太、菊川清見

(東京薬大)

我々はすでに、コーヒー煎り豆(モカ)にS9mix存在下、*S. typhimurium* TA98において変異原活性を示す物質が含有されていることを報告した。今回、この変異原物質について検索を行ったところ、コーヒー煎り豆の中でコーヒー繊維に吸着された型で存在し、MeOH-NH₄OHによって脱離されることがわかった。変異原物質は塩酸性で水とクロロホルムに分配させたとき水層に移行し、また、ブルーコットンに吸着した。このことから変異原物質はヘテロサイクリックアミン様の塩基性物質であることが示唆された。MeOH-NH₄OH抽出、HCl-CHCl₃分配、NaOH-CHCl₃抽出、ブルーコットン吸着で粗精製した変異原物質は逆層カラムを用いたHPLCでAとBの2つのフラクションに分離され、それぞれS9mix存在下、*S. typhimurium* TA98で158、80 His⁺ revertants/10g コーヒー煎り豆当量の変異原活性を示した。一方、コーヒー煎り豆を更に400°Cで加熱すると、HPLCで得られるフラクションA、Bの活性は、それぞれ4倍、20倍の活性の増加を示し、コーヒー豆中の成分が加熱によってヘテロサイクリックアミン様物質を生成することが示唆された。HPLCのretention timeからフラクションA、Bは既知のヘテロサイクリックアミン、Trp-P-1、Trp-P-2、Glu-P-1、AαC、MeAαC、7,8-DiMeIQx、4,8-DiMeIQxとは異なるものであり、また、フラクションBはIQ、MeIQ、MeIQx、Glu-P-2とも異なるものであることがわかった。これら両フラクションの変異原物質について、XAD-2、TLC、再HPLCによる精製を行い、その本体について検討をおこなった。

豆1粒から抽出した変異原物質のHPLC分析結果を示す。フラクションAとBの活性はそれぞれ4倍と20倍の増加を示した。

変異原物質のHPLC分析結果を示す。フラクションAとBの活性はそれぞれ4倍と20倍の増加を示した。

O-12

X線およびトリチウムβ線によるマウス骨髄小核の誘発

○滝澤行雄、陳 徳清、蜂谷紀之（秋田大・公衆衛生）

マウス骨髄を用いる小核試験はin vivoにおける染色体異常誘発性の推定に有効である。われわれは、X線およびトリチウムβ線暴露母親マウスと胎子における骨髄小核の発現頻度について検討した。

〈方法〉 ICR系マウス（12-14週令）を交尾させた後、X線暴露群では妊娠第16日目にマウス全身にX線照射（電子線治療用リニアアクセレータ、10MeV、300rad/秒）をターゲットから100cm離して0、25、50、100、150radで行った。暴露6、9、12、18、24、30時間目および13、15、17日目にと殺し、母親の骨髄小核と胎仔肝の小核含赤血球数(PECs)の発生頻度を算定した。小核試験はSmidtらの方法を改良した山本らの分析法によった。

また、トリチウム水5、15、30、60、120μCi/gを妊娠第8日目のマウス腹腔内に一回投与し、投与5日後にと殺して同様にPECsを算定した。

〈結果と考察〉 X線25~150radおよびトリチウムβ線5~120radの範囲で高線量暴露に伴ってPECsの発現頻度がほぼ直線的に上昇し、いずれも胎仔肝の方が母親骨髄より影響がやや強く現れた。X線暴露において胎仔肝への影響は比較的早く現れ、暴露12時間で最大となっているのに対し、母親骨髄ではかなり遅れて、24時間頃に最大となっている。しかし、X線100rad照射後19日目には胎仔肝のPECsはほぼ対照レベルに戻るが、母親骨髄のPECsは変化なく横ばい状態(4%)を示した。

トリチウムβ線の影響は特に胎仔肝に著明で、120rad暴露で母親骨髄のPECs 7.7%に対し、胎仔肝では10.6%であった。

O-13

ラット肝細胞DNA修復におけるアニリン誘導体の遺伝毒性
○吉見直己¹、岩田仁¹、田中卓二¹、森秀樹¹、清水英祐²
（¹岐阜大、医、一病理、²慈恵医大、公衆衛生）

アニリンおよびアニリン誘導体は広く染料やポリウレタン製品の中間原料として使用されている。1895年Rehnのアニリン染料工場での膀胱癌の発生の報告は最初の職業癌のひとつとして有名であるが、この膀胱癌の多発はアニリン以外の物質に暴露されたものとされ、アニリンの発癌性はいまだにはっきりしない。今回、35種のアニリン誘導体について、ラット肝細胞におけるDNA修復試験を指標とする各々の遺伝毒性を検討した。

方法；ACIラット肝をコラゲナーゼ灌流法で単離化させた肝細胞をトリチウムサイミジン含むウイリアムE培地で、以下の試験物質とともに20時間培養し、DNA傷害修復能を指標としたオートラジオグラフィで検討した。35種のアニリン誘導体（p-aminoacetanilide, 4-amino-2-chlorotoluene-5-sulfonic acid sodium salt, anthranilic acid methylester, o-chloroaniline, 2-chloro-4-methylaniline, 2-chloro-5-methylaniline, 4-chloro-N-methylaniline, 5-chloro-2-methylaniline, 2-chloro-4-nitroaniline, 2,5-diaminobenzene sulfonic acid, 3,5-diaminobenzoic acid, 3,4-diaminobenzene, 3,5-diaminobenzene, 2,5-dichloroaniline, 3,4-dichloroaniline, 3,5-dichloroaniline, N,N-diethylaniline, N,N-dimethylaniline, 2,4-dinitroaniline, o-ethylaniline, metanilic acid, o-methoxyaniline, 2-methoxy-5-methyl-aniline, N-methylaniline, N-methylantranilic acid methylester, 2-methyl-4-nitroaniline, 4-methyl-2-nitroaniline, o-nitroaniline, p-phenetidine, m-phenylenediamine, p-toluidine-m-sulfonic acid, 2,4,5-trichloroaniline, 2,4,6-trichloroaniline, 2,4,6-trimethylaniline, 2,4-xylylidine) を検討した。

結果；上記のうち、8つすなわち、2,4,6-trimethylaniline, 2,4-xylylidine, 2,5-diaminobenzene sulfonic acid, 3,5-diaminobenzoic acid, 3,4-diaminobenzene, 3,5-diaminobenzene, 2-chloro-4-methylaniline, 4-chloro-N-methylanilineは陽性であった。

O-14

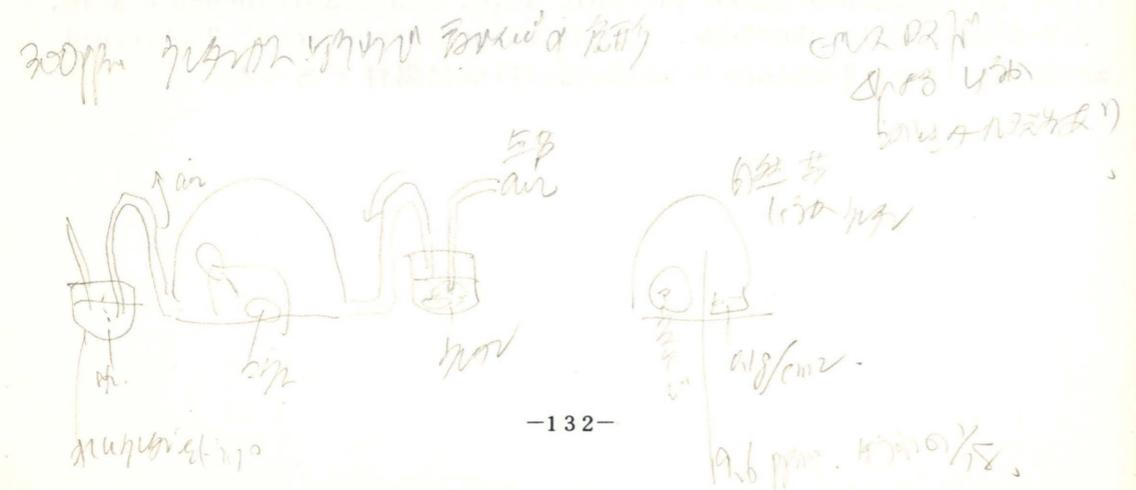
経気道、長期、低濃度曝露の影響—マウスでの発癌

野村大成、○本行忠志、林 晃正、小西裕之、黒川信夫、福島久雄（大阪大、医）、伊佐幸雄（大阪大、歯）

ヒトは、呼吸による有害物質の攻撃を避けることは困難である。また、長期、低濃度被曝は、急性毒性実験では予期できない結果を生む可能性がある。

本研究では、ウレタン（昇華性）および、ピレスロイド（気化性）をモデル物質にえらび、癌を指標としてヒト生活環境と同一条件下で、長期、低濃度吸入実験を行った。ビニールハウス（1時間3回換気）中で、4週齢のICRマウスを飼育した。その中に20gのウレタンを放置した（18.7 ppm）。0、1、3、5、10日間マウスを飼育し、5ヶ月後に屠殺した時の腫瘍発生率は、2.0、58.0、92.0、85.5、100%、肺当りの腫瘍数は、0.02、1.1、5.3、7.5、14.8、といずれも暴露日数に比例して上昇していた。10日間暴露群50匹を12ヶ月後に屠殺したところ、全例に種々の腫瘍が発生した。特に、肺腫瘍は、急性実験ではみられない様な悪性度を示し、10例には、転移がみとめられた。

ピレスロイド40-80 mgを紙に染み込ませ、同一条件のビニールハウス中で、加熱気化させた。その中でICRマウスを、3、5、10日間飼育し、5ヶ月後に屠殺したところ、肺腫瘍は3日、5日吸入群で11.3、15.4%（対照群、2.0%）と上昇したが、10日吸入群では0%であった。しかし、リンパ性白血病が低率（5.8%）ながら誘発されている（対照群、0%）。



O-15

線虫C.elegans の産子数等を指標とした発癌プロモーター検出系の検討

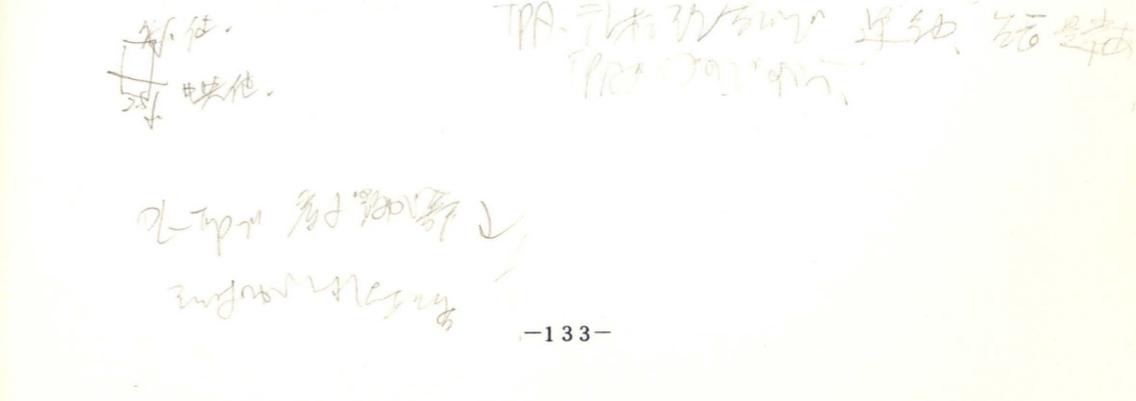
○栗原敬子¹、倉科周介¹、田伏 洋²、三輪錠司²、神沼二真³
（（財）東京都臨床医学総合研究所 診療方法論研究室¹、日本電気基礎研究所²、
（財）東京都臨床医学総合研究所 生命情報工学研究室³）

目的：C.elegans (Caenorhabditis elegans) は、体長約 1mmの自活性土壌線虫で、世代時間が短く、大量培養でき、取扱が簡単である等、スクリーニングテストの材料としての好条件を備えている。

C.elegans が、 $10^{-7} \sim 10^{-6} M$ のTPA で生長・生殖が阻害され異常な運動を示すこと、およびTPA 抵抗性の株では、この様なTPA による阻害はみられないことが三輪・田伏らによって報告されている。従って、野生株にTPA 様の阻害作用を示し、かつTPA 抵抗株で阻害がみられない物質はTPA タイプの発癌プロモーターである可能性が高い。今回は、他の試験系で発癌プロモーター作用が報告されている物質についてこのスクリーニングテストを適用してみた。

実験方法：C.elegans を被検物質を加えた寒天培地で育て、世代を区別するために、産卵中は、毎日、親虫を新しい培地に移す。卵がhatch して子虫が育ったところで、培地の暗視野写真を取り、子虫を写真上で計数して、その総数を産子数とする。また産子数が低下した系では、実体顕微鏡下で行動を観察する。今回は先ず、野生株を用いた実験だけを行った。

結果：sodium ascorbate、sodium erythorbate、saccharin sodium、L-Leucine、L-Isoleucine、L-Valineは、 $10^{-2} M$ でも産子数に影響を与えなかった。cholic acid は $5 \times 10^{-4} M$ で、DL-Tryptophan は $10^{-3} M$ で産子数を若干低下させたが、TPA 様の運動阻害は見られなかった。従って、これらの物質はTPA タイプの発癌プロモーターではないことが示唆された。今後さらに多くの物質について試験をすることで、本試験法によるTPA タイプの検出系としての妥当性を検証したいと考える。



O-16

Micronucleus test by flow cytometry: Application to mouse peripheral blood.

Norppa, H., M. Hayashi, T. Sofuni, Y. Kodama
and M. Ishidate, Jr. (Natl. Inst. Hyg. Sci.)

Conventional micronucleus test, based on manual analysis of micronucleated erythrocytes (MNEs) in a microscope, is tedious and time-consuming. In the present study, flow cytometry was applied to the micronucleus test on mouse peripheral blood erythrocytes. The flow cytometer used was EPICS V (Coulter) equipped with a Coherent UV laser (operated at 200 mW). The frequency of MNEs was determined, after fitting into normal distribution, on the basis of the difference in peak green fluorescence distribution between an unstained sample and another stained with 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI, 0.05 ug/ml). Such an automated system could, in principle, make the analysis of micronuclei easier and less subjective. Because of the high number of cells scored in flow cytometric (FC) analyses, the automated approach might also be more sensitive than the manual method.

Mammalian erythrocytes, which are typically biconcave disks, deform and tumble in a flow cytometer producing varying signals despite their uniform shape. Such variation can be decreased by spherizing the cells with sodium dodecyl sulphate (30 ug/ml) simultaneously with fixation by 1% glutaraldehyde (in 50 mM Sorensen buffer, pH 6.8). This procedure results in samples with good stability, high proportion (97-100%) of spherical erythrocytes, and reduced coefficient of variation for forward light scatter.

In blood samples collected during a 49-day experiment from male ddY mice treated at 4-6 day intervals with 11 intraperitoneal (i.p.) injections of 50 mg/kg 6-mercaptopurine, the correlation of MNE frequencies obtained by manual and FC analysis was only slightly lower ($r=0.744$) than that reached by two manual analyses performed by different persons ($r=0.776$). An agreeable correlation also existed between two FC analyses from the same material ($r=0.824$). In mice treated by gavage with benzene at 6 weekly doses of 625, 1250, or 2500 mg/kg, the correlation between manual and FC analyses was relatively low ($r=0.352$), but the FC approach appeared to give a clearer dose response than the microscopical scoring.

O-17 新しい交配方法によるマウス スポット テスト

土川 清 (国立遺伝学研究所)

これまで MMS 分科会の共同研究において, PW雄と C57BL/6, B10 Congenic および KYG 雌との交配によるマウス スポット テストについて検討してきた。そこでさらに特定の染色体における *mitotic recombination* を検出する方法として, PW雌 ($a/a \ b/b \ pc^{ch}/pc^{ch} \ d/d$) と C^e 雄 ($a/a \ +^{h}/+^{h} \ +^{ce}/+^{ce} \ +^{d}/+^{d}$) との交配法を考案した。この交配によって検出できる突然変異と, 異色斑の色調との関係を C57BL/6 X PW の場合と比較して下の表に示した。今回は ENU 25 と 50 mg/kg を妊娠 9 日に投与し, 現れた異色斑の毛は, すべて顕微鏡下で同定した結果について報告するが, *recombination* によって生じた *twin spot* は, *Drosophila* の翅毛スポットのように画然としていない。

Theoretical production of coat color spots

Cross:	C57BL/6 X PW	PW X C^e
Genotype of F ₁ :	$pc^{ch}/++ \ a/a \ b/+ \ d/+$ (black)	$pc^{ch}/+ce \ a/a \ b/+ \ d/+$ (dull brown)
Spots from mutation * or deletion°		
+ → $p^{*}(\circ)$	light grey	white ($pc^{ch}/p^{*}ce$)
+ → $c^{*}(\circ)$	light brown	—
c^{ch} → $c^{*}(\circ)$	X	white ($pc^{*}/+ce$)
c^{ch} → c^{e*}	X	pale brown
c^e → $c^{*}(\circ)$	—	light brown
+ → $b^{*}(\circ)$	brown	brown
+ → $d^{*}(\circ)$	blue grey	grey
Spots from reciprocal mitotic recombination		
Centromere — p (R.F. : 23%)	{ white { (+ maternal black)	{ white(pc^{ch}/pc^{ch}) { pale brown($+ce/+ce$) twin
p — c (R.F. : 15%)	X	pale brown($pc^e/+ce$)

X : Indistinguishable from normal coat color.

O-18 アルカリ溶出法によるラット胃粘膜DNA損傷の検出

○降旗千恵, 佐藤裕子, 松島泰次郎 (東大・医科研・癌生物)

〔目的〕遺伝毒性の *in vivo* 短期検出法の一つとして, DNA 損傷を検出するアルカリ溶出法を, ラットの胃粘膜に適用した。

〔方法〕アルカリ溶出法は, Sina et al. (Mut. Res., 113, 357-391, 1983) の方法を一部改良して用いた。8週令F344雄ラットに, 蒸留水に溶解または懸濁した試料を胃チューブで投与した。2時間後に胃粘膜5mgを取り, フェネル上に加えた lysing solution 中に直ちに投入し30分間作用させた。フィルターはフロリナートフィルター (Millipore type FALP, 1.0 μm pore size, 25 mm) を用い, pH 12.1, 流速 0.05 ml/分, 20-25°C で溶出した。溶出液中のDNAはエタノール沈澱の後, 3,5-ジシアミノ安息香酸と反応させて, 蛍光光度計で定量した。

〔結果〕DNA 溶出を片対数グラフに表して, その勾配を比較した。対照群 (蒸留水) の勾配 0.022 ± 0.008 に対して, 腺胃癌原物質 MNNG は体重 1 kg 当り 30-100 mg 投与で, 0.265~0.385 と有意のDNA 損傷を示した。既に私達が腺胃粘膜で不定期DNA 合成誘導を示唆した glyoxal は, 体重 1 kg 当り 500-550 mg 投与で, 0.200-0.285 と有意のDNA 損傷を示した。

〔考察〕胃粘膜を体外へ取り出すとDNA は分解され易く, lysis までを手早くすることが要点であった。温度も溶出に関係した。既に不定期DNA 合成誘導を示唆した glyoxal によるDNA 損傷を確認した。

Handwritten notes in Japanese, including "MNNG 100mg/kg", "glyoxal", and other experimental details.

O-19

ショウジョウバエの組換え能欠損二重変異株 *mei-9^amei-41^{D5}* を用いる *in vivo* DNA 修復テストの特徴

○藤川和男, 坂本豊, 菊池康基

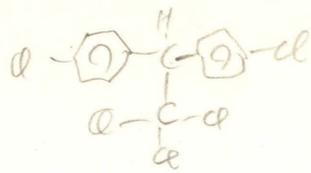
武田薬品・中央研

最近, Amesテストに代表される *in vitro* 変異原性試験は化学物質のがん原性の予測には, 従来信じられていた程には, 役に立たないことが次第に明らかになってきた。このことは, 発がんが *in vivo* 現象なので, 動物個体丸ごと用いるテストの重要性を改めて指摘するものである。とはいっても, 現行の *in vivo* 変異原性試験は, バクテリアの試験と比較すると, あまりにも手間がかかりすぎる。ハエの *mei-9^amei-41^{D5}* 系統を利用するDNA 修復テスト系の開発に着手した所以である。

雄が常に *Rec⁻* 二重変異を担い, 雌が常に正常な修復能を有し, 性別が眼色と体色で判るように工夫した株 *sc z¹ w^(TE) mei-9^amei-41^{D5}/C(1)DX,yf (Rec⁻/Rec⁺)* と, 雄も雌も正常な修復能を有す株 (*Rec⁺/Rec⁺*) を作成した。これらの株の幼虫を検体で処理し, 成虫期で雄/雌の比を求める。*Rec⁻/Rec⁺* 株を処理した場合に限って, この比が対照区以下に用量依存的に減少すれば, 検体のDNA 損傷性は陽性であると判定することにした。この判定基準の正当性を支持する証拠は, 多種多様な変異原物質と非変異原性細胞毒物を用いて行った実験から得られた。この実験で陽性効果をもたらした物質には, 5-FU, hexamethylphosphoramide, urethane, procarbazine 等のAmesテスト陰性物質が含まれている。

現行の *in vitro* テストを補完する *in vivo* テストとしてのハエの *rec*-assay の長所と短所を論ずる。

Handwritten notes in Japanese, including "6-mp", "AF2", "5FU", "MTX", and other experimental details.



O-20

ショウジョウバエにおけるDDTの殺虫作用と変異原性

井上裕章¹⁾ 梁 治子²⁾ 藤川和男³⁾

(大阪大学医学部 遺伝学教室¹⁾ 放射線基礎医学教室²⁾, 武田薬品中央研究所³⁾)

p-p'-DDTは発ガン性が証明されているにもかかわらず、細菌を用いた変異原性試験で陰性の結果を得ている。p-p'-DDTの変異原性について、ショウジョウバエ *in vivo* 短期試験法二つを用いて検討した。

DNA 修復試験：附着X染色体系統の雄のX染色体に修復欠損変異 *mei-9, mei-41*を導入し、修復能に関して正常の附着X染色体を持つ雌とともに幼虫時に検体処理して羽化率に生じる性差から変異原を検出する系。対照系統には雌雄ともに正常な修復能を持ち遺伝的背景が同一の附着X染色体系統 (*mei+* 系統) を用いる。修復欠損系統の3令幼虫にp-p'-DDTを摂食させると僅かながら雄の羽化率が雌よりも低くなった。*mei+* 系統でも同様な結果を得たのでp-p'-DDTに対する感受性の性差はDNA 障害に起因するものではないと結論した。

翅毛スポット試験：第3染色体上に翅毛突然変異遺伝子 *mwh* (多翅毛) と *flr* (炎毛) をトランスヘテロに持つ幼虫を検体で処理し、いろいろなタイプの遺伝的変化を羽化後の成虫の翅に生じるモザイクスポットとして検出する系。上記の試験と同じ条件でp-p'-DDTによる処理を行ったところ、対照群と比べてモザイクスポット出現率に有意な増加が認められた。

これらの結果をふまえてショウジョウバエの短期試験法の特徴と有用性について論ずる。

<p-p'-DDTの発ガン性および遺伝毒性試験の結果>

- 発ガン性： + (マウス)
- 変異原性： - (Ames test)
- (ショウジョウバエDNA 修復試験)
- + (ショウジョウバエ翅毛スポット試験)
- 染色体異常： + (ヒトリンパ球)

O-21

活性酸素発生系における染色体異常誘発
——ソフトX線による検討——

○祖父尼 俊雄・沢田 稔・畑中 みどり・石館 基
(国立衛試・変異原)

放射線による種々の生物学的傷害に活性酸素が関与していることはすでに指摘されているところであり、⁶⁰Co-γ線による染色体異常誘発にもhydroxyl radical (・OH) が関与していることが報告されている (Sasaki and Matsubara, 1979)。今回、我々はソフトX線の染色体異常誘発性について、活性酸素、特に・OH以外の活性酸素の関与の有無を、チャイニーズ・ハムスター培養細胞 (CHL) を用いて検討した。ソフトX線の発生装置 Softex CMB-2 を用い、4 mA, 30 kVp、距離 30 cm の条件 (線量率 57 R/min) で照射を行った。照射後 PBS で2回洗い、新しい培養液を加え、24時間培養後に染色体標本を作製した。染色体異常の出現頻度は4分照射 (約 230 R) より明らかに増加し、10分照射 (約 570 R) で75%の細胞に染色体異常が認められた。

・OHの scavenger である cysteamine を培養液に添加し、10分後にソフトX線を照射し、前述のように染色体標本を作製した。染色体異常をもつ細胞の出現頻度は cysteamine の濃度により依存して減少した。但し、完全には抑えきれず、10%弱の異常細胞が残存しており、・OHの関与が部分的であることを示した。これらの結果は⁶⁰Co-γ線での報告と一致しており、両放射線による染色体異常誘発に・OHが共通して関与していることを示している。

・OH以外の活性酸素の関与の有無を検討するために、superoxide dismutase (SOD) およびその阻害剤である diethyldithiocarbamate を添加したところ、染色体異常誘発性には影響があらわれず、superoxide radical が関与しないことが考えられる。また、ソフトX線の染色体異常誘発性に対する catalase およびその阻害剤である aminotriazole の添加効果はみられず、さらに、過酸化水素抵抗性細胞での染色体異常誘発性にも差異はみられなかった。これらの結果は過酸化水素が関与していることを示しているが、今後、singlet oxygen の関与についても検討する予定である。

WILSON → 1984年9月3日

SOD の all 阻害剤 阻害作用 阻害作用 阻害作用

O-22

放射線感受性変異体 wastedマウスにおけるガンマ線
誘発染色体異常の組織特異性

○手塚 英夫、井上 正 (国立遺伝学研究所)

哺乳動物では、放射線を含めた変異原に対する細胞の感受性が、DNA修復を含めた核酸代謝とどのように関連するのか、またそれは個体レベルでは各種の器官の発達にどのような影響を及ぼすのかは現在明らかではない。常染色体性劣性変異体 wastedマウスは、このような変異原感受性と核酸代謝や、さらに、造血系、免疫系器官の発達との関連を調べるためには良いモデル動物であることが、われわれのこれまでの知見により示唆されている。その知見には、1) ガンマ線照射後にwastedマウスの骨髄細胞に観察される高率の染色体異常の誘発が、このマウスの離乳後の日令に依存すること(離乳直後の21-22日令では野生型マウスとの差が認められず、その後3-4日間で急増)、2)この日令依存性の感受性変化は、その出現様式より、骨髄細胞(特に赤芽球系細胞)の分化との関連が示唆されること、の二点が含まれている。

このことに関して、染色体異常誘発の組織特異性の観点も含め、第一点についての検討を行い、a) *in vitro*の系として、日令の異なるwastedマウス由来の培養線維芽細胞を用いた場合に、どちらの日令の例ともガンマ線誘発の異常頻度に差がなかったこと、b) *in vivo*の系として、25日令以降の動物の精原細胞を用いた場合も、やはり差がなかったこと、の二点を確認した。これより、現在、骨髄細胞をエリスロポエチン添加下に培養して、日令の変化に対する検討を行なっている。

また第二点に関して、赤芽球系細胞の各分化段階の幹細胞であるBFU-E、CFU-Eの放射線照射後の生存率の変化を観察して、感受性を示す分化段階の細胞を特定し、あわせて報告する予定である。

O-23

双生児末梢リンパ球における染色体傷害誘発感受性について - 遺伝的要因と環境要因の評価

○森本兼義・新川加奈子・高野幸路 (東京大学医学部公衆衛生学教室)

ヒトの遺伝子構成は極めてheterogeneousであり、幾つかの好発癌性遺伝性疾患患者細胞等を用いた今までの研究成果から、変異原による染色体傷害の誘発感受性の決定には、遺伝的要因が強く作用している可能性がある。一方、我々のこれまでの研究から環境要因、特に喫煙・飲酒・ストレス等のライフスタイルが個々人の末梢リンパ球における染色体傷害誘発感受性に有意な影響を及ぼしている事実を認めた。そこでこれら、集団内部での個々人の感受性分布に遺伝的要因がどの程度関与しているかをmono-zygoticとdi-zygoticの双生児末梢リンパ球を用いて検討した。染色体傷害の指標としては、化学物質誘発の場合には姉妹染色分体交換(SCE)を、又、放射線誘発傷害の場合には染色体構造異常を指標として採り上げた。

23組のdi-zygotic並びにmono-zygoticの双生児から採血したリンパ球に 3×10^{-8} Mのmitomycin-C (MMC)誘発SCE頻度並びに基底SCE頻度を観察した。又同時に、 $^{137}\text{Cs}-\gamma$ 線(2Gy)をG₀期で照射すると共に、同時にDNA修復阻害剤であるcytosine arabinoside (ara-C)を照射時に添加して、これによる染色体構造異常頻度(Dicentrics plus Rings)頻度の上昇を見た。mono-zygoticは理論上遺伝子構成は全く同一であり、di-zygoticの場合には同胞や親子の間にみられる程度の一致しか観察されない。そこでこれらの双生児のそれぞれについて、級内相関係数を求め、一致度を検討した。その結果、 γ 線による染色体構造異常頻度並びにara-Cによる誘発には有意な一致はみられなかった。一方、基底SCE頻度の級内相関係数は0.5程度であり、有意な一致ではなかったが、MMC誘発SCE頻度の場合、級内相関係数が0.87と有意な一致を見せ、少なくともMMC等の変異原によって誘発されるSCE誘発感受性には、遺伝的要因の関与が強く示唆された。

遺伝的

base of Rb 30-17
Lg 40 30 30 30

O-24

クロスリンク剤によるDNA鎖切断

○矢嶋信浩, 保地真一, 岸健彦, 川西悟生
(雪印乳業株式会社 生物科学研究所)

Kohn等によって紹介されたアルカリ溶出法は, DNAを抽出せずにDNA単鎖切断やDNA-DNAクロスリンクを観察できる方法である。演者等は, 第14回大会において, 放線菌由来の抗癌性抗生物質, SN-07がDNAにクロスリンクした後, DNA単鎖切断を誘発する事を既に報告した。

今回は「DNA障害(DNA-DNAクロスリンク)⇒DNA修復⇒突然変異」の初期過程を検討する為に, Mitomycin C (MMC) および 1-(4-amino-2-methyl-5-pyrimidinyl)methyl-3-(2-chloroethyl)-3-nitrosourea hydrochloride (ACNU) を比較薬として, 3薬剤による「DNA-DNAクロスリンク⇒DNA鎖切断」を比較検討したのでその結果を報告する。

材料および方法

〔細胞〕マウス白血病細胞 L1210

〔化学物質〕SN-07は当研究所において分離精製したものを用いた。MMCは協和醗酵工業より, ACNUは三共より購入した。

〔アルカリ溶出法〕Kohn等の方法に従い, ^{14}C -dThdでラベルした細胞を薬剤処理し, ^3H -dThdでラベルした細胞をX-線処理し内部標準とした。

結果および考察

- 1) 3剤の細胞毒性は SN-07>MMC>ACNUの順であった。
- 2) 等細胞毒性濃度に対するクロスリンクはMMC \geq ACNU>SN-07であった。
- 3) 薬剤処理後24時間培養を行なうと, SN-07では用量依存的なDNA単鎖

切断が観察された。しかし低濃度のMMCおよびACNUではDNAクロスリンクの修復に依存すると思われる溶出速度の増加が観察され, 高濃度では, 低濃度の溶出速度を上回る結果を示した。

- 4) Novobiocinの存在下で後培養を行なうと既報とは反対に溶出速度の増加がおこる場合があることを観察した。

以上の事は, MMCおよびACNUにおいてもDNA-DNAクロスリンクの後にDNA単鎖切断が起こる事を示唆していると思われた。しかし, DNA単鎖切断の誘発され方は薬剤により大きな違いがある事が判った。

O-25 シャトルベクター系によるマウス培養細胞の自然突然変異解析

○池畑広伸(京大, 理, 動物) 加藤武司(阪大, 医, 放射)

高等動物の自然突然変異の解析は自然発生する癌や遺伝病に重要な知見を与える。近年, 真核生物の突然変異解析のために培養細胞とシャトルベクターを用いた系がいくつか開発されたが多くは系そのものが高頻度の人工的自然突然変異を免れないという欠点を持つ。前回報告した我々のシャトルベクター系はこうした問題がないのを利用し自然突然変異の解析をしている。ヒトHPRTcDNAを突然変異の標的として組込んだレトロウィルス由来のシャトルベクター pZipHprtNeo (Neo 遺伝子をマーカーに持つ) でマウス由来HPRT欠損培養細胞 2TGOR を HPRT⁺ に形質転換し, その中から突然変異研究に最も適したクローンとして得られた VH12 株は自然突然変異率が 4×10^{-5} , ベクターDNAのコピー数が細胞当り1, 細胞からのベクターDNAの回収も良好である。HATNeo 選択培地で維持した VH12 細胞を非選択培地で一週間ほど培養したのち 6TGNeo 選択培地で 6TGR 自然突然変異細胞を選抜した。そこからベクターDNAを回収し HPRTcDNAの塩基配列を決めた。現在までに14の自然突然変異クローンを解析し12クローンでDNAの変化を検出した。7クローンは塩基置換によりすべて AT対への transversion, このうち3クローンは同じ場所で生じていた。2塩基欠失によるものが4クローンですべて TG が3回反復した同じ場所にあった。1クローンで5塩基の duplication もあった。また解析例が少なく確定的なことは言えないが特定の塩基置換の起こり易さやホットスポットの存在などが示唆され興味深い。更にデータをふやして報告する予定である。

2000/10/5 池畑広伸 加藤武司
2000/10/5 池畑広伸 加藤武司
100 8000/10/5 池畑広伸 加藤武司

O-26

ヘテロサイクリックアミン代謝中間体とDNAの反応

○山下克美、梅本 淳、S. Grivas、加藤俊二、若林敬二、佐藤茂秋、杉村 隆
(国立がんセンター研究所)

加熱食品等に含まれる変異原、がん原物質であるヘテロサイクリックアミンをラットに投与し、³²P-ポストラベル法により DNA付加体を調べた。各々の化合物は、種々の臓器で、多種類の付加体を形成した。Trp-P-1とMeIQxの代謝中間体と思われる誘導体を化学的に合成し、in vitroで DNAと直接反応させた。得られた付加体を in vivoで形成される付加体と³²P-ポストラベル法を用いて比較検討した。

Trp-P-1は、in vivoで1種類のmajorと数種類のminor付加体を形成する。化学的に合成したN-OH誘導体と DNAとの反応でも数種類の付加体が発見された。このうち、majorなものは、in vivoでのmajor付加体とクロマトグラフィー上で一致した。さらに、N-OH体と無水酢酸を反応させ、1分後に DNAと反応させた場合にも、いくつかの付加体が形成され、このうちmajorなものは、in vivoのmajorなものと同じであった。またこれらの付加体の形成レベルはN-OH体との反応よりはるかに高かった。これに反し、N-OH体と無水酢酸を12時間反応させた後に形成される、N,0-diacetyl体と考えられる化合物をDNAと反応させると、いずれもレベルは低いが8種類の付加体が発見された。また、それらのほとんどがin vivoでみられるものと一致した。

MeIQxからTrp-P-1の場合と同様に合成したN,0-diacetyl体も、in vitroで DNAと直接反応し、9種類の付加体を形成した。in vivoでは7種の付加体が発見されるが、これらは全てin vitroの付加体と一致した。また MeIQxのN,0-diacetyl体はサルモネラ菌TA98に対し、直接変異原性を示した。

従って、Trp-P-1もTrp-P-2、IQと同様にN-acetoxy体とN-OH体が、DNAとの反応性の高い活性体と考えられる。さらにTrp-P-1及びMeIQxのN,0-diacetyl体にも弱いながら直接反応性がある事がわかった。

Handwritten notes and diagrams on page O-26. Includes chemical structures of N-acetoxy and N-OH derivatives, and a reaction scheme showing the conversion of N-acetoxy to N-OH over 12 hours. Text includes 'MeIQx', 'Calf Thymus DNA', 'in vitro', 'in vivo', and '12hr'.

O-27

ニトロアレン類の代謝活性化に関与するSalmonella遺伝子のクローニング
—構造解析とその利用

○渡辺雅彦、能美健彦、石館 基
(国立衛試、変異原性)

我々はサルモネラからニトロアレン類の代謝活性化に関与するニトロ還元酵素、アセチル転移酵素遺伝子のクローニングを行い、プラスミド中にクローンされた遺伝子を持った、ニトロアレン類高感受性なS. typhimurium TA1538誘導株を得た。今回は、得られたクローン株の、数種の化合物に対する感受性を試験するとともに、クローン遺伝子の制限酵素地図を作製し、サブクローニングおよび他の菌株への遺伝子導入を行ったので報告する。

クローニングによって得られたニトロ還元酵素高生産株 TA1538NR(pYG111), TA1538NR(pYG112) およびアセチル転移酵素高生産株 TA1538/1,8-DNP(pYG121), TA1538/1,8-DNP(pYG122) の、2-ニトロフルオレン(2-NF)、1-ニトロピレン(1-NP)、1,8-ジニトロピレン(1,8-DNP)、4-ニトロキノリン-1-オキッドに対する感受性を調べた。ニトロ還元酵素高生産株は、2-NFおよび1-NPに対し高い感受性を示し、アセチル転移酵素高生産株は、2-NFおよび1,8-DNPに対し高い感受性を示した。

pYG111, pYG121, pYG122について、6種の酵素を用いた制限酵素地図を作製した。クローニングされたinsertは、pYG111が10.05Kb、pYG121が5.75Kb、pYG122が7.3Kbであり、アセチル転移酵素高生産性をもつpYG121とpYG122には、類似の切断パターン部位が存在した。pYG111のサブクローニングにより、1.6Kbの活性遺伝子を持つプラスミドを得た。pYG122のサブクローニングにより、1.35Kbの活性遺伝子を持つプラスミドを得た。それぞれの活性遺伝子を、pBR322のPst I siteに組み込み、新たにテトラサイクリン耐性のクローンプラスミドを作製し、pKM101を持つAmes菌株TA98およびTA100を形質転換した。得られた形質転換株の性質については、現在検討中である。

Handwritten notes and diagrams on page O-27. Includes chemical structures of 2-NF, 1-NP, and 1,8-DNP. Text includes 'pYG111', 'pYG121', 'pYG122', '1.6Kb', '1.35Kb', and 'Ames菌株TA98'. There are also some diagrams showing restriction enzyme sites and plasmid maps.

O-28

Intrinsic Mutagenicity toward Salmonella of O-Sulfonates of Carcinogenic Hydroxymethyl-substituted Polycyclic Arenes and N-Hydroxy-2-acetylaminofluorene as Reactive Metabolites

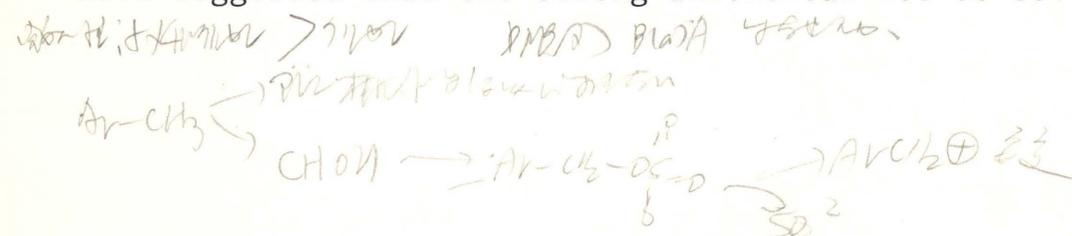
OTadashi WATABE, Haruhiro OKUDA, Kenichiro OGURA, and Akio SUGIYAMA: Dept. Hygienic Chem., Tokyo College of Pharmacy, Hachioji, Tokyo 192-03

The potent carcinogens, 5-hydroxymethyl-chrysene (5-HCR), 7-hydroxymethyl-12-methyl-benz[a]anthracene (7-HMBA), 12-hydroxymethyl-7-methyl-BA (12-HMBA), and 7,12-dihydroxymethyl-BA (DHBA), are P-450-mediated oxidation products of the corresponding carcinogenic methyl-substituted arenes, 5-methyl-CR (5-MCR) and 7,12-dimethyl-BA (DMBA), in liver and/or skin. 5-MCR is found in tobacco smoke. The authors have demonstrated that 5-HCR, HMBAs, and DHBA are converted by sulfotransferases in rat liver cytosol into reactive sulfate esters, all of which bind covalently to the exocyclic primary amino groups of the adenine and guanine residues of calf thymus DNA. DHBA is regiospecifically conjugated at the 7-hydroxymethyl group. These hydroxymethylarenes showed potent mutagenicity toward S. typhimurium TA98 in the presence of PAPS and rat liver cytosol than in the presence of S9 mix from the rat liver. Their sulfate esters, however, showed much higher mutagenicity toward TA98 in the absence of the cytosol-PAPS system. The magnitude of the bacterial mutagenicity exerted by the sulfate esters appeared to follow the order of their reactivities.

The putative ultimate metabolite, 2-acetylaminofluorene (AAF) N-sulfate, has very recently been isolated and identified by the authors from the incubation mixture consisting of N-OH-AAF, rat liver cytosol, and PAPS. AAF N-sulfate showed potent intrinsic mutagenicity toward TA98.

The present investigation led to a conclusion that the reactive sulfate esters could penetrate the bacterial membrane into the cytoplasm and interact with DNA to induce the reverse mutation of the cells, although many workers have suggested that the strong anions can not do so.

Handwritten notes in the left margin of page 146.



O-29

加熱変異・癌原物質、MeIQx の肝における活性化機構

山添 康、O Medhat Abu-Zeid、真部俊一、外山誠司、加藤隆一 (慶応大・医・薬理)

[目的] 食品の加熱によって生成する主変異原複素アミンの一つであるMeIQx はその変異原性を示すために肝S-9 mix による活性化を必要とする。そこで今回我々は MeIQx 肝における活性化機構について化学的及び酵素学的両面から検討を加えた。

[結果] サルモネラ変異原性試験においてMeIQx を変異原に変換するラット肝の酵素はその大部分が肝ミクロゾーム画分に存在した。ラット肝ミクロゾームのMeIQx 活性化能は、ラットのフェノバルビタール前処置によってはあまり変動しなかったが、3-メチルコランスレンあるいは PCB前処置によって著しく増加した。またこれら復帰変異コロニー数の変動は比色法を用いたN-水酸化活性の変動と良く相関した。そこでMeIQx のニトロおよびヒドロキシアミン誘導体を合成し、これら物質の変異原性を測定したところ、両物質はサルモネラに対して強い変異原性を示し、2位のアミノ基の酸化がMeIQx の主活性化経路であることが確認された。一方肝ミクロゾームの活性化酵素については、酵素誘導剤及び阻害剤に対する挙動よりチトクローム P-450の関与が示唆された。そこで5種の精製チトクローム P-450を用いた再構成実験を行い、我々が既に報告した P-448型チトクローム P-450と共に、非誘導型チトクローム P-450、P-450maleが高い活性化能を有することを見出した。

Handwritten notes and chemical structures in the right margin of page 147, including a diagram of a cytochrome P-450 heme group.

O-30

ミオグロビン、ペルオキシダーゼなどによる変異原の活性化と分解

○有元佐賀恵，早津彦哉（岡山大・薬）

〔目的〕環境中の変異原物質の多くは生体内での代謝活性化を受けることにより、変異原性を示す。その活性化機構の一つとして、我々はペルオキシダーゼが食品加熱変異原などの代謝活性化の必要な変異原のいくつかを過酸化水素存在下、活性化することを見出した。さらに、ミオグロビンやヘモグロビンが同様に過酸化水素存在下、変異原物質の活性化を非酵素的に起こすこと、その活性化体はこれらヘムタンパクにより分解を受けることを見出したので、報告する。

〔方法・結果〕焼く焦げ変異原IQと、西洋わさび由来のペルオキシダーゼあるいはミオグロビンなどと過酸化水素とを、サルモネラ菌TA98とインキュベートしたところ、復帰変異が検出された。MeIQについても陽性であった。IQとペルオキシダーゼの場合についてサルモネラ菌の各菌株における変異原性のspecificityを調べたところ、TA98/1,8-DNP₆で著しく減少、TA98NRでもやや減少した。IQをS9で活性化した場合にも同じ傾向が見られた。ペルオキシダーゼを不活性化すると変異原性は陰性であった。また、IQとペルオキシダーゼと過酸化水素の反応液から、時間を追ってaliquotを抜いて、逆相系高速液体クロマトグラフィーにかけて分析した。すると、IQの急速な分解に伴って、いくつかのピークが生成した。その一つはIQをS9で代謝した時に生成するN-ヒドロキシIQと保持時間が一致し、常に存在した。

〔考察〕以上により、ペルオキシダーゼによって、IQが活性化されてN-ヒドロキシ体となり、さらに分解してゆくことが分かった。ミオグロビン、ヘモグロビンについても同様の機構によると思われる。

O-31

スーパーオキシドディスムターゼのTrp-P-2活性化体の変異原性に対する影響

○平本一幸，難波哲人，根岸和雄，早津彦哉（岡山大・薬）

トリプトファンの加熱分解で生じるTrp-P-2をはじめ、食品加熱変異原であるヘテロサイクリックアミンは、生体内で代謝されて活性中間体であるN-OH体となる。

我々は、N-OH-Trp-P-2が中性溶液中で自動分解し、その際スーパーオキシド($O_2^{\cdot-}$)等の活性酸素を生成し、DNA鎖切断を引き起こすことを見出し報告してきた。更に、 $O_2^{\cdot-}$ の消去剤であるスーパーオキシドディスムターゼ(SOD)が存在すると、N-OH-Trp-P-2がNO-Trp-P-2に急速に酸化されること、及び $O_2^{\cdot-}$ によってNO-Trp-P-2がN-OH-Trp-P-2へ還元されることを昨年度の本学会で報告した。

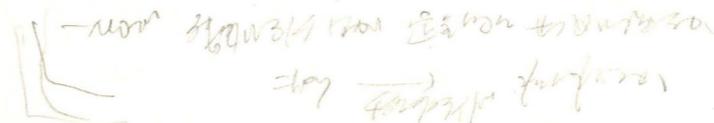
今回、N-OH-Trp-P-2がSOD存在下にすばやくNO-Trp-P-2へと変換される反応の生物学的意義を理解するために、その際の変異原性の変化について検討した。

N-OH-Trp-P-2を中性緩衝液中で37℃に保ち、経時的にaliquotをとり、TA98に対する変異原性を-S9で調べた。

その結果、SOD非存在化におけるN-OH-Trp-P-2の変異原性は次第に減少し、90分後にはほぼnegativeになった。これに対し、SODを共存させたものでは、変異原性は急速に減少し、10分前後で反応開始時の約1/3となった。しかしその後変異原性は変化しなかった。これはNO-Trp-P-2の変異原性がN-OH-Trp-P-2の1/3であることで良く説明できる。

この変異原性の減少と紫外吸収の変化は良く一致している。つまり、N-OH-Trp-P-2は中性溶液中では次第に分解して変異原性の無い未知物質へと変化してしまうが、SODの存在下ではN-OH-Trp-P-2がより安定なNO-Trp-P-2に変換され変異原性が長時間持続するようになると考えられる。このとき残ってくる変異原性はN-OH体とNO体との比活性の違いから1/3になると考えられる。

以上のことは、生体内でSODがTrp-P-2の変異原性を増強している可能性を示唆している。



O-32

Complex way, 18-0

芳香族アミンおよびアミドに及ぼす
Quercetinの変異原性修飾効果

○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)

我々はこれまでにFlavonoidが2-AAFの変異原性に及ぼす増強効果について報告してきた。

今回は、Flavonoidの変異原性増強効果と芳香族アミンおよびアミドの化学構造との関係を明らかにする目的で、単環から縮合四環までの芳香族アミンおよびそのアセトアミド24種、複素環アミンのTrp-P-1、Trp-P-2、Glu-P-1、Glu-P-2およびそのアセトアミド8種を用い、Quercetin (Q) 共存下における変異原性強度の変化を調べた。変異原性試験は各化合物の至適S9量の存在下TA98を用いたpreincubation法で行ない、混合投与ではQは各化合物と等mole量を共存させた。

2-Aminofluorene、2-Aminoanthracene、2-Aminophenanthreneおよびこれらのアセトアミド並びに4-Acetamidobiphenylでは、Qとの混合投与により変異原性が1.6~5.1倍に増大した。一方、Aniline類、Amino-biphenyl類、Naphthylamine類、1-Aminopyrene類およびこれらのアセトアミドでは変異原性が抑制される傾向が見られた。複素環式化合物では、Qの効果はS9の濃度により影響を受けたが、Trp-P-2では増強、Glu-P-2では抑制的な効果が認められた。

結果から、芳香族アミンおよびアミドに及ぼすQの変異原性増強効果は、縮合三環式の構造を持つ化合物に対し有効であることが強く示唆された。また、Qは縮合三環以外の芳香族アミンや複素環化合物に対しては変異原性抑制効果も示すことが明らかとなった。

QはAnilineの変異原性に対しては影響を及ぼさず、QにはNorharman様の効果は無いものと考えられた。

Quercetin
自己増強効果あり
他は抑制効果あり

O-33

自己増強効果あり
2000年2月20日
1987年

培養細胞に対する化学変異原の複合効果 IV
Vanillinによる変異原修飾効果

○玉井功一、手塚英夫、賀田恒夫、黒田行昭 (国立遺伝学研究所)

われわれは、本学会において、これまでに哺乳動物培養細胞を用い、化学物質の複合効果に対する研究を進めて、いくつかの知見を示してきた (I-III)。今回、既存の変異原と抗変異原といわれるものとの複合効果において、新たに2, 3の興味ある結果を得た。

化学物質としては、前回用いたEMS (Ethyl methanesulfonate) を変異原とし、抗変異原として Vanillin (DNA組換え修復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Bacteriaの系で報告されている; Ohta et al., 1986) を同時処理あるいは後処理してEMSの変異原性の変化を検討した。またEMSとは異なる型の変異原として4NQOおよびH₂O₂を用い、Vanillin後処理によるこれらの化学物質の変異原性の変化も検討した。

細胞株はチャイニーズ・ハムスターV79細胞を用い、6-チオグアニン(6TG)抵抗性突然変異の誘発頻度を指標として変異原性を調べ、細胞生存率に対する影響も観察した。

この結果、EMSとVanillinとの同時処理において、EMS単独処理よりも生存率の低下および6TG抵抗性突然変異誘発頻度の増加が認められた。Vanillin後処理の場合も同様であった。これに対し4NQOの場合には、上記の2指標に関する変化は観察されず、H₂O₂の場合には、生存率の上昇が観察された。またH₂O₂単独処理では、6TGの系で陰性であったので、染色体異常誘発を指標として用いたところ、Vanillin処理により誘発低下を示した。これらの結果は、Vanillin処理によって影響を受けるDNA修復を中心とした細胞機能が、変異原の型により異なることを示唆するものである。

他に、EMSと4NQO、EMSとMNNGの同時処理についても検討したので、あわせて報告したい。

H₂O₂ + EMS
H₂O₂ (100%)
EMS + Vanillin
EMS + MNNG

哺乳動物細胞に対するビタミンAおよびEの
変異原修飾作用とその機作

黒田行昭

(国立遺伝学研究所)

哺乳動物の培養細胞を用いて、ビタミンCおよびその誘動体が、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) による突然変異を著しく抑制することを昨年ので報告した。今回は、ビタミンCと同じく抗酸化作用があり、また細胞膜系の安定化作用があるビタミンEや、生体において種々の生理活性が知られているビタミンAについて、変異原物質に対してどのような作用があり、またそれはどのような機作によるものかについてしらべた。

使用した細胞は、チャイニーズ・ハムスターV79細胞のクローン系で、変異原物質としてはEMSを、また突然変異の指標としては6-チオグアニン (6TG) 抵抗性を用いた。ビタミンEの細胞生存率に対する作用は、ビタミンCより弱く、500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ でも細胞生存率61%で、ビタミンEのLD₅₀値は710 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。800 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のEMSは細胞生存率を19%に低下させるが、これにビタミンEを加えると細胞生存率をさらに低下させた。ビタミンAはビタミンEよりは細胞致死作用が強く、LD₅₀値は302 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。ビタミンAはEMSによる細胞致死作用を、やや抑制する作用があった。

ビタミンAおよびビタミンEは、単独ではほとんど突然変異を誘発する作用がない。しかしEMSとビタミンEを同時作用させると、EMSによつて誘発される突然変異率は上昇し、その頻度はビタミンEの濃度とともに増大した。またEMSとビタミンAを同時作用させると、EMSによつて誘発される突然変異率をやや低下させた。このようなビタミンEやビタミンAの処理をEMS処理の前後に行つて、これらビタミンの変異原修飾作用の機作についてしらべた結果について報告する。

EMS + V.E. → 3倍
800 μg 100 μg dose ratio by

V.E. → EMS
dose ratio 100% 60% 80%

EMS + V.A. → 100%
V.E. + EMS → 90%

報告書作成
V.E. 1000

特別講演

「活性酸素の生成と消去」

京都大学食糧科学研究所

浅田 浩二 先生

10月27日 15:00 ~ 16:00

特別講演

活性酸素の生成と消去

京都大学・食糧科学研究所 浅田 浩二

McCord と Fridovich が 1969年、30年以前に赤血球から Keilin が単離していた erythrocyuprein が O_2^- の不均化活性 (SOD活性) をもつことを発見したのを契機として、それ迄放射線照射のような特殊な条件でのみ生成すると考えられていた活性酸素 (O_2^- , H_2O_2 , $HO\cdot$, 1O_2) が細胞の多くの内在性反応でも生成することが明らかにされてきた。基底状態の酸素分子 (3O_2) は3重項であるため酵素なしには大部分の細胞成分と反応できないが、活性酸素は反応性が高く、これによって標的分子 (蛋白質、脂質、DNAなど) が酸化されると生物は酸素障害をうける。酸素を利用する生物も酸素障害を防御する活性酸素の生成抑制、消去、標的分子の修復、蛋白質の de novo 合成の機構がなければ生存できなない。ここでは生物がもつこの活性酸素の生成抑制機構について考えてみたい。しな活性酸素 (ミトコンドリア)、水 (葉緑体) の利用、低い細胞内酸素濃度、 3O_2 と反応しやすいラジカルの生成抑制、 $HO\cdot$ を生成しない Fe, Cu の細胞内での存在状態などがあつて、これらによって活性酸素の生成量は呼吸で消費されることが生物にとって酸化ストレスをなさないことには重要な役割を演じている。活性酸素の消去系は、高活性酸素濃度、放射線、紫外線、可視光、公害ガス、金属イオン、自動酸化性が高い化合物など) は生物にとって酸化ストレスをなさないことには重要な役割を演じている。活性酸素の生成した場合には、細胞内での消去機能が充分でない

Low oxygen peroxide se

LOO · enzyme or 20min

Radical DT 2030

$24 \mu M Fe + (1.5 \times 10^{-11} \text{ mol } ^3O_2 / 5 \times 10^9 \text{ cells/day})$

double dose for experiment. $1.5 \times 10^{-11} \text{ mol } ^3O_2 / 5 \times 10^9 \text{ cells/day}$
 $\rightarrow 1.5 \times 10^{-11} \text{ mol } HO\cdot / 5 \times 10^9 \text{ cells/day}$

受賞講演

ショウジョウバエによる環境変異原検出系に関する研究

梁 治子

大阪大学 医学部

体細胞突然変異は発癌の原因のひとつと考えられている。簡単な実験動物であり、遺伝学の資産でもあるショウジョウバエには、ヒトの色素性乾皮症のように除去修復(Exc)能が全くない変異株がある。Exc⁻幼虫と正常幼虫の紫外線による体細胞突然変異を比較した。Exc⁻幼虫では微量紫外線で変異が著増するのに対し、正常幼虫では、紫外線による突然変異はほとんど起こらない。つまり正常な幼虫の体内では、*in vitro*よりはるかによくDNA修復能が働き、完璧に近く、紫外線によるDNA損傷を除去するようだ。

次にハエで、体細胞突然変異による発癌をみようと考えた。ハエには、25個の劣性の癌遺伝子が知られている。これらの劣性癌遺伝子は、ホモ(またはヘミ)にもつ幼虫を100%癌死させるという強力なものである。このうちのひとつであるmalignant blood cell neoplasia (mbn) — ヒトの白血病に相当 — 遺伝子に注目し、「白血病」遺伝子ヘテロ(mbn/+)幼虫に体細胞突然変異により「白血病」ホモ(mbn/mbn)細胞が生じた時、「白血病」ヘテロ(mbn/+)幼虫が発癌するかどうかをテストした。体細胞突然変異の誘発は幼虫にX線を照射することで行った。X線を照射された幼虫が成虫になった時、眼色をマーカーに体細胞突然変異率を「白血病」ヘテロ(mbn/+)接合体と正常(+/+)体で比べたところ、「白血病」ヘテロ(mbn/+)幼虫の方が変異率が低かった。「白血病」ヘテロ(mbn/+)幼虫に「白血病」ホモ(mbn/mbn)細胞が生じると、それが原因で、「白血病」ヘテロ(mbn/+)幼虫は死ぬようだ。体細胞突然変異が個体死をもたらす間接的証拠を得たが、癌死を示す幼虫はみつかっていない。

以上のように、ショウジョウバエの体細胞突然変異検出系をうまく使うと、*in vivo*でのDNA修復能や、発癌遺伝子の働きを知ることが可能である。

受賞講演

ショウジョウバエによる環境変異原検出系に関する研究

藤川 和男

武田薬品工業株式会社 中央研究所

伴性劣性致死法に代表されるように、ショウジョウバエの突然変異検出法の真骨頂は遺伝学的手法を駆使する交配実験にあった。しかし、このように生殖細胞の突然変異を調べる方法は、十分に役立たないことが、AF-2や焼けこげ変異原(Trp-P-1, Trp-P-2)を被験物質として行った一連の研究で明らかになった。これらの物質は、生殖細胞でほとんど毒性を示さないにもかかわらず、体細胞で明瞭な変異原性を示したのである。体細胞で生ずる染色体突然変異は染色体組換えの原理を利用する翅毛スポットテストで、遺伝子突然変異はunstable white-zeste系あるいは四重複white-ivory系を利用する眼色復帰変異テストで、効率よく検出できる。これらの体細胞テストは、いずれの生殖細胞テストと比較しても、はるかに簡便である。しかし、バクテリアのテストと比較するとそうではない。

より簡便な体細胞テストとして、DNA修復試験を思いついた。還元分裂期の組換え欠損(Rec⁻)をもたらすDNA修復能欠損変異mei-9^aとmei-41^{D5}を同じX染色体上に担う系統が、このようなテストに適していることは、すでにUniv. of CaliforniaのJ.B.Boydのグループが明らかにしていた。雄が常にRec⁻二重変異体で雌が常にRec⁺である株を作成した。この株ではRec⁻雄とRec⁺雌が一目で判別できるように工夫した。また、性比を1付近で安定させるため10世代以上にわたり選抜を行った。同様にして、雌雄共にRec⁺である株も作成した。前者の株の幼虫集団(当然のことながら、同じ発育段階にあるRec⁻雄とRec⁺雌がほぼ同じ数で混在する集団)を検体に曝した場合に限って、成虫期に達する雄バエの雌バエに対する数の比が、無処理区のレベルから用量依存的に減少すれば、その検体にDNA損傷性があると判定することができる。

ショウジョウバエによる変異原検出が少数の「専門家」の独壇場であった時代はもう過ぎた。

シンポジウム

「突然変異の機構

—環境変異原の見地から—

10月28日 15:35 ~ 17:35

S-1 ~ S-6157~162ページ

S-1

突然変異の機構—環境変異原の見地から
序論—ヒトにおける突然変異と発がん
武部 啓 (京大・医・分子腫瘍)

突然変異と発がんの共通点と相違点

発がん原は変異原であるという B. N. Ames の有名な論文以来、両者の共通性は、発がん性のスクリーニングに変異原性が用いられているように広く認められている。しかし両者の定量的な相関性は必ずしも高くないし、サルモネラ菌などによる変異原性と、マウスなどによる発がん性を比較すること自体に無理があることはよく理解されている。突然変異が変異原の作用後直ちに (2回の複製後) あらわれるのに対し、発がんには時間がかかり、その間プロモーションの過程があることから、現在は発がんのイニシエーションとして突然変異が位置づけられている。

ヒトにおける突然変異と発がん

ヒト個体レベルの突然変異機構の研究は皆無に近く、培養細胞での研究もまだ少ない。SOS反応や適応反応の存在は未確認であり、否定的データが多いが大腸菌の *ada* 遺伝子はヒト細胞で発現する。一方色素性乾皮症細胞の研究からは、DNA修復と突然変異の関係が、微生物における機構と共通していることが示唆されている。大腸菌における *rec-* に相当する変異体 (細胞) が得られていないことが機構の解明を困難にしている。

ヒトにおける研究の重要性

DNA修復の突然変異や発がんへの関与の研究はDNA修復遺伝子のクローニングまで進んできたがヒトのDNA修復はマウスやハムスターとかなり異なり、ヒトにおける機構の研究が今後重要となろう。

7/14, 7/22-24

S-2

ヒト細胞の突然変異

巽 紘一 (京都大学医学部・分子腫瘍学教室)

ヒトと細胞DNAの存在様式が異なる細菌などの原核細胞だけでなく、哺乳動物培養細胞として変異原検定試験に従来よく用いられてきた嚙歯類動物とヒトの間でも、変異原によるDNA傷害の除去修復能が異なっている場合がある(ピリミジンダイマー、O⁶アルキルグアニン)。

従って環境変異原のヒトへの危険度を評価するための資料としてはヒト細胞における突然変異が採られるべきであり、その特徴を明らかにすることが重要である。私達はEBウイルスによる不死化で大量の細胞供給が可能なリンパ芽球様細胞をヒト体細胞材料に選び、マイクロウェルプレート上で限界希釈に基づく彷徨試験を行って、十分に高い推計学的精度の下に突然変異頻度を測定することができるようになった。この方法でDNA修復・複製・組換えといったDNA基本代謝に欠陥があると考えられている高発がん性遺伝病患者由来細胞について突然変異特性を検討した。その結果、①紫外線(UV)の細胞致死作用に高感受性であるA群色素性乾皮症(XP)細胞では致死ヒット当りの比較でも正常人細胞やC群XP細胞よりはるかに高率にUV突然変異が誘発される、②γ線の細胞致死作用に高感受性である末梢血管拡張性運動失調症(AT)細胞では線量当りのγ線変異誘発は正常細胞と差がない、③DNA鎖間架橋剤の細胞致死作用に高感受性のファンコニ貧血症(FA)細胞では生存率が殆ど低下しない極低濃度でのみ架橋剤で変異が誘発される、などが明らかになった。

XP、FAの結果からヒト細胞にはそれぞれの変異原による変異誘発を抑制する機構が備わっていることが示唆される。

S-3

SOS反応と突然変異

○島川日出夫、岩崎博史、柴肇一、中田篤男(阪大・微研)、加藤武司(阪大・医)。

放射線や化学変異原などで大腸菌がDNAに損傷を受けると、15個以上の遺伝子の発現が誘導される。これ等はDNAの修復や突然変異の誘発に関与するため、細胞のDNA損傷という緊急時に対する適応反応と考えられ、SOS反応と呼ばれている。SOS遺伝子は通常LexAプロテアーゼによって抑制されている。DNAに損傷を受けると、細胞内に単鎖DNAなどが増加して、RecAタンパクがプロテアーゼとして活性化されて、LexAを切断して不活性化するため、SOS遺伝子の発現がおこる。その結果、DNA損傷が修復されるため、単鎖DNAなどが減少して、RecAはプロテアーゼ活性を失うため、LexAが蓄積して再びSOS遺伝子を抑制するようになる。

SOS突然変異では、DNA複製阻害をおこすような損傷によって、RecA, UmuD, Cが誘導されて、複製阻害を克服して、反対側損傷部位の相手側に、対応する塩基を挿入するため突然変異がおこると考えられている。塩基アナログやアルキル化された塩基の誤対応によっておこる突然変異には、これ等の遺伝子は関与しない。RecA, UmuD, Cの産生が誘導されただけでは細胞の突然変異能は向上しない。RecAがプロテアーゼとして活性化されることは必要である。またLexAのRecAによって切断される周辺のアミノ酸配列と類似の配列がUmuDにも見られるので、UmuDが活性化されたRecAによって切断されるかどうか調べた。その結果、UmuDは活性化されたRecAによって17k→14kに切断される事が証明された。

S-4

アルキル化剤に対する適応応答と突然変異

○関口睦夫、吉開友則、高野京子、作見邦彦、中村崇規、穴井元昭、于成国、中別府雄作 (九大・医・生化)

アルキル化剤は強力な突然変異誘起作用をもつが、また細胞に対して致死効果を示し、また動物に対しては発がん作用を持つことが知られている。このようなアルキル化剤の生物学的効果は主としてアルキル化剤によるDNAの修飾に基づくと考えられている。実際比較的単純なアルキル化剤であるメチルニトロソウレアで細胞を処理した場合、DNAに10種以上のアルキル化塩基やホスホトリエステルが生じることが明らかにされている。一方細胞はこのようなアルキル化塩基やホスホトリエステルからアルキル基をとり除いて修復する機構をもち、特に微生物ではそのような修復系が比較的低濃度のアルキル化剤で誘導されることが明らかにされている。この機構は一般に適応応答とよばれるが、我々は大腸菌を用いてその機構を明らかにすべく研究を進めてきた。その結果大腸菌の適応応答において中心的な役割を演じているのは分子量39,000のAdaタンパク質であることが明らかになった。このタンパクは分子内に2つのメチル基受容部位をもち、それぞれ異なる損傷の修復に与るとともに、メチル化されたAdaタンパクがada遺伝子の転写を促進して、その結果適応応答全体の発現をコントロールする役割を果たしている。クローン化したada遺伝子やその転写調節領域に人工変異を導入して解析した結果をもとに、適応応答の分子機構について述べたい。

Ada 遺伝子の転写を促進して、その結果適応応答全体の発現をコントロールする役割を果たしている。クローン化した ada 遺伝子やその転写調節領域に人工変異を導入して解析した結果をもとに、適応応答の分子機構について述べたい。

S-5

酸素ラジカルによる DNA 損傷と突然変異

葛西宏 (国立がんセンター研・生物)

酸素ラジカルを発生する変異原は環境中に多数存在し、量的にも多いので、ヒト発がんを考える上で重要と考えられる。これまでに酸素ラジカルにより生じる DNA 損傷としては、DNA 鎖切断 (SB)、チミングリコール (TG)、5-ヒドロキシメチルウラシル (HMU) および我々の見出した 8-ヒドロキシグアニン (8-OH-Gua) 等が知られている。しかしこれらの DNA 損傷に関してどれが突然変異や発がんに関連して本質的に重要であるかについては明確ではない。

例えば Hsieh らは CHO 細胞の変異株 AS52 を用いて酸素ラジカル発生因子による突然変異は主に SB に基づく deletion により起こると考えている。塩基損傷については一般的にチミンの修飾が重要視されており、Ames らの開発したサルモネラ菌 TA 102 ではヒスチジン遺伝子中の AT 塩基対のところで突然変異を起こすことから TG の重要性が指摘された。また、HMU は天然ファージ DNA 中に存在するが、最近 5-ヒドロキシメチル-2'-デオキシウリジンはサルモネラ菌の DNA に取り込まれ突然変異を起こすことが証明された。また 8-OH-Gua については、DNA の特定の位置に 8-OH-Gua を含むものを化学合成し、この DNA をテンプレートにして *in vitro* で DNA 合成させると 8-OH-Gua の位置およびその前後で塩基の読み間違いを起こすことが我々の研究室で明らかとなった。

このように上記 4 種の DNA 損傷すべてが突然変異に関連する事が示されているが、今後更にこれらの DNA 損傷の量的比較、および各々の DNA 損傷による、より詳細な *in vivo* での突然変異の特性を調べる必要がある。

Guarero mut. res (1977) (Ohsaka 90-107) M100
Gibson (1987)
AT or GC base pair deletion + or mut.
GC damage. strand polymerase

突然変異 - DNAからヒト個体まで -

近藤宗平 (近畿大、原研)

環境変異原によるヒトの突然変異 太陽紫外線で皮膚癌が発生する途中で、体細胞突然変異が起こっているだろう。最近、原爆放射線を浴びた人の赤血球系幹細胞に突然変異が過剰に起こったと思われる証拠が報告された。欠失突然変異と「相同染色分体の組換え」に基づくと思われる突然変異が見つかった。変異原で性細胞に突然変異が起こった証拠はまだない。

性細胞と体細胞の変異原感受性の違い 化学変異原をマウスの精原細胞に与えてもほとんどは陰性である。例外的に陽性を示す変異原は、体細胞にたいして直線型の反応を示すのに、精原細胞にたいしてはシグモイド型の反応を示すことが知られている。ショウジョウバエでも、化学変異原による変異誘発反応は、精原細胞でシグモイド型、体細胞で直線型である(藤川和男ら未発表)。この違いは、DNA修復が性細胞で格段に発達していることを示唆する。

人体細胞の自然突然変異と発癌しやすい体質 人の一生の間に約 10^{16} 回の体細胞分裂が起こる。自然塩基対置換変異率は約 10^{-9} /bp/複製 であるから、例えば ras 癌遺伝子だけでも約 10^7 回発生する。半数以上の人は、癌にならないのだから、このような優性変異は発癌の主因ではありえない。DNA欠失を主とする自然劣性変異率は約 10^{-6} /gene/複製 である。劣性の好発癌変異を、片親から受け継ぐか自発変異としてヘテロに持っておれば、相同染色分体組換えにより、劣性の発癌変異についてホモ接合細胞が高頻度で誕生し、癌が起こりやすくなるだろう。

索引

人名索引.....163

物質名索引.....167

Swaine 1987

2151 425- 008

1977の10⁻¹²

これは DNA の変異率のこと

1977 欠失 10⁻⁶ per gene

人名索引

A		G		稻沢 譲治	P-25
阿部 賢一	P-22	後藤 敦	O-2	稲山真理子	P-41
阿部 達生	P-25	後藤 博子	O-6	井上 裕章	P-27, P-74, O-20
Medhat Abu-Zeid	O-29	後藤 純雄	P-6, P-7, P-46	井上 雅雄	P-62
安藤 信明	P-54		P-47	井上 正	O-22
青儀 巧	P-54	Spiros Grivas	P-20, P-26	井上 達生	P-54, P-76, P-81
青木 祐子	P-47			井上 由起	P-44
荒木 明宏	P-40	H		乾 直道	P-1, P-56, O-5
有賀 文彦	P-54	蜂谷 紀之	P-54, O-12	井坂 英彦	P-30
有元佐賀恵	P-66, O-30	浜田 淳	O-5	石館 基	P-38, P-55, P-67
有行 史男	P-52	原 正樹	P-54		O-16, O-21, O-27
浅田 浩二	特別講演	原 巧	P-23, P-24, P-54	伊藤 正樹	P-80
朝倉 正登	O-2	長谷川真樹子	P-1, O-5	岩井 和郎	P-7
浅野 哲秀	P-54	橋爪 崇	P-19	岩見 禎彦	P-65
直 弘	P-53	橋本 常生	P-45	岩崎 弥平次	P-43
		畠山 義朗	P-53	岩田 仁	O-13
C		畑中みどり	P-38, O-21	岩脇 浩美	P-80
陳 徳清	O-12	林 晃生	O-14	泉川 碩雄	O-3
		林 和夫	P-69		
D		林 真	P-54, P-55, O-16	J	
大長 典子	P-11	早津 彦哉	P-35, P-66, O-1,	神保 勝彦	P-45
Silvio De Flora	P-20		O-8, O-11, O-30,	実成 文彦	O-2
			O-31		
E		早津 聡子	O-1, O-11	K	
江幡 淳子	P-89	肥後ひろみ	P-36	蒲谷 京子	P-74
円藤 吟史	P-33	平井 邦夫	O-32	角永 武夫	P-41
遠藤 治	P-7, P-46, P-47	平本 一幸	O-31	亀山 朋子	P-16
遠藤 立一	O-3	平山 晃久	P-3, P-4, O-32	神沼 二真	O-15
		広田 秀美	P-87	金西 信次	P-45
F		久岡 祥子	P-17, P-18	金田 斉	P-84
藤江喜美子	P-21	一ツ町晋也	P-54, P-57	葛西 宏	P-63, S-5
藤井久美子	P-17	保地 真一	P-29, O-24	片山 敬	P-47
藤川 和男	P-27, P-36, O-19	本行 忠志	O-14	加藤 真理	P-18
	O-20	堀口 俊一	P-33	加藤 隆一	P-74, O-29
	受賞講演	堀川 和美	P-9, P-10	加藤 俊二	O-26
福田 雅武	P-25	堀谷 尚古	P-23	加藤 武司	O-25
福井 昭三	P-3, P-4, O-32			加藤 哲太	P-37, O-9
福島 久雄	O-14	I		川原 浩	O-3
降旗 千恵	O-18	池田 保男	P-54	河井 一明	P-59, P-60, P-81
古川 秀之	P-59, P-60, P-81	池畑 広伸	O-25	川西 悟生	P-29, O-24
		今西 久子	P-76, P-77, P-78	川崎 祐子	P-90

津吉 俊 P-54

U

内海 昭 P-32
上野 芳夫 P-22
上杉 透 P-43
鵜川さと子 P-73
梅本 淳 O-26

W

若林 敬二 P-20, P-64, P-65
O-10
渡部 烈 O-28
渡部 真 P-45
渡辺 雅彦 O-27
渡辺 三恵 P-75, P-76
渡辺 徹志 P-3, P-4
渡辺 芳江 P-51

Y

矢嶋 信浩 P-29, O-24
山影 康次 P-43
山本興太郎 P-14
山内 恒幸 P-7, P-46
山下 克美 P-64, O-26
山下みつ子 P-11
山添 康 O-29
米澤 真弓 P-66
吉川 邦衛 P-27, P-44, P-74
吉見 直己 O-13
吉武 彬 P-41, P-58, P-80

Z

Xue - Ming Zhang O-10

物質名索引

A

2 - AAF O-32
Acetaminophen P-16
2 - Acetylaminofluorene P-54, P-58
N² - Acetylguanosine P-65
Acetyltransferase O-27
ACNU O-24
Acrylamide O-5
Actinomycin D O-19
Adriacin P-91
AF 102 B P-29
AF - 2 P-42, P-82, P-87, P-89, O-6
Aflatoxin B₁ P-22, P-82
(E) - Alkanediazohydroxide P-73
(Z) - Alkanediazohydroxide P-73
Alkane sulfonic acid P-85
Alkylamine P-85
Allethrin O-14
Ampicillin P-45
Aniline derivatives O-13
1 - β - D - Arabinofuranosylcytosine P-54
Arecoline P-29
Ascorbic acid P-80, P-81
Aspirin P-27
Azaarene O-3

B

Benz(c)cinoline P-8
7 H - Benz(de)anthracene-7-one P-8
Benzene P-54, O-16
Benzo(a)pyren P-6, P-54, P-58, P-82
P-87, P-88, O-4
Benzo(a)pyrenequinone P-59
Bile acids P-13
2-Biphenylamine P-36
4-Biphenylamine P-36
Blue cellulose powder O-1
Blue cotton P-17, P-18, P-66, O-1, O-9
Blue rayon O-1
Blue resin O-11

1, 3-Butadiene P-40

C

Cadmium chloride P-79
Caffeic acid P-34
 β -Carbolines P-19
D-(+) - Catechin P-34
Carbadox P-31
Carboxylic acid P-85
Catechol P-34
Chloroacetones P-11
o-Chloronitrobenzene P-71
Chlorophyllin P-35
Cholic acid O-15
Cigarette smoke condensates P-84
Cinoxate P-78
Coffee P-65, O-9
Coffee fiber O-9
Colchicine P-54, P-56
Concanavalin A P-50
Copper Phthalocyanine disulfonate P-66
CuSO₄ · 5 H₂O P-28
Curcumin P-83
Cycloheximide P-56
Cyclophosphamide P-53
Cyclosporin P-25
Cysteine P-19
Cytochrome P-450 P-74
Cytosine arabinoside O-23

D

Daunomycin P-91
DDT O-20
Dehydroascorbic acid P-81
Demecolcin O-19
1, 1-Dialkylhydrazine P-70
1, 2-Dialkylhydrazine P-70
1, 8-Diamino - 2, 7-dimethylphenazine P-4

2,7-Diamino-3,8-dimethylphenazine P-4
 3,3'-Diamino-4,4'-dimethylazobenzene P-4
 3,3'-Diamino-4,4'-dimethylazoxybenzene P-4
 2,4-Diaminotoluene P-3, P-4
 Diazoquinone P-37
 Diesel tar P-1
 Diethylnitrosoamine P-48
 N,N-Diethyl-p-phenylenediamine P-38
 4,8-DiMeIOx P-15
 Dimethylnitrosoamine P-48
 N,N-Dimethyl-p-phenylenediamine P-38
 3,7-Dinitrofluoranthene P-10
 3,9-Dinitrofluoranthene P-10
 1,3-Dinitropyrene P-1
 1,6-Dinitropyrene P-2, P-10, P-60
 1,8-Dinitropyrene P-58, P-60, O-27
 N,N'-Di-sec-butyl-p-phenylenediamine P-38
 DMBA O-6
 Dopamine P-80
E
 Eggplant P-90
 Erythromycin P-45
 Esquinone P-91
 Ethylenethiourea P-27
 Ethyl methanesulfonate P-43, P-81, O-33
 O-34
 Ethylnitrosourea (ENU) P-23, P-24, P-44
 P-57, O-6, O-17
 Euscaphis japonica (野鴨椿) P-88
F
 Fecapenten P-64
 Flavonoid O-32
 5-Fluorouracil P-56, P-91, O-19
 Formaldehyde P-49
 Futraful P-91

G
 Gallic acid P-34
 Glutaraldehyde P-49
 Glutathion-S-transferase P-71
 Glyoxal P-49, O-18
 Guanosine P-65
H
 Hemin P-84
 Heterocyclic amine O-9, O-10, O-26
 Histidine P-14
 Histidine peroxide adduct P-14
 Hydrogen peroxide P-14, P-42, P-49, P-65
 P-79, O-30, O-33,
 8-Hydroxyguanine P-64
 5-(Hydroxymethyl)-2-furfural P-28
 N-Hydroxy-Trp-P-2 P-66, O-30, O-31
 5-Hydroxytryptamine P-19
 Hydroxyurea P-27
I
 Indomethacin P-69
 IQ P-15, P-20, P-81
K
 Kitasamycin P-45
 Krestin (PSK) P-91
L
 Lanthanum chloride P-32
 Lentinan P-91
 Levodopa P-80
 Lignin P-11
 Linoleic acid P-63
 Linolenic acid P-63
M
 MeIQ P-15, P-20
 MeIQx P-15, O-29

2-Mercaptoethanol P-50
 6-Mercaptopurine O-16
 8-Methoxypsoralen O-8
 Methyl cholanthrene P-1, P-41, O-4
 Methyl glyoxal P-65
 Methyl iodide P-61
 Methyl methanesulfonate (MMS) P-56, P-61
 P-77, O-7
 Methyl nitrosourea (MNU) P-24, P-39, P-61
 P-62, O-7
 N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine
 (MNNG) P-77, O-7, O-18
 Methyl sinapate P-78
 Mitomycin C P-26, P-39, P-43, P-50, P-52
 P-69, P-76, P-77, O-23, O-24
 Monoalkyl hydrazine P-70
 (-)-(1S,3S)-MTCA P-21
 Myoglobin O-30
N
 Neocarzinostatin P-91
 Nickel fume P-5
 Nifurpirinol P-11
 Nitrite P-16, P-37
 Nitrobenzo(a)pyrene P-60
 2-Nitrofluorene O-27
 3-Nitrofluoranthene P-10
 Nitro-IQ P-15
 1-Nitropyrene P-2, P-10, P-60, P-72, O-27
 1-Nitropyrene 4,5-oxide P-72
 1-Nitropyrene 9,10-oxide P-72
 4-Nitroquinoline 1-oxide (4NQO)
 P-47, P-58, P-82, P-83, O-33
 Nitroreductase O-27
 Nitrosamine P-35, P-37
 N-Nitroso alkyl urea P-85
 N-Nitrosohydroperoxyamine P-85
 Nitrosophenol P-37
 Norharman P-71
 NO-Trp-P-2 O-31

O
 Olaquinox P-31
 Organoarsenic compounds P-33
 Oxotremorine P-29
P
 Paeonia Lactiflora (赤芍) P-88
 Paraquoto P-49
 Penicillin P-45
 Peroxydase O-30
 Plastics P-30
 Platinum (IV) sulfate P-32
 m-Phenylenediamine P-38
 o-Phenylenediamine P-38
 Phenol P-37
 Phthalic acid ester P-8
 1,6-Pyrenequinone P-59
 1,8-Pyrenequinone P-59
 Phytohaemagglutinin P-50
 Polygonatum officinale (玉竹) P-88
 Potassium chromate P-56
 Polymeric materials P-30
 Polyurethane foam P-3
 Procarbazine P-39, O-19
 Propyl methanesulfonate P-39
 Propyl nitrosourea (PNU) P-23, P-24
 Pyrene O-4
Q
 Quercetin O-32
 Quinoxaline-1,4-dioxide derivatives P-31
R
 Rosa laevigata (金櫻子) P-88
 Roast meat P-17
S
 Saccharin sodium salt O-15
 Safrole P-58

Selenic acid	P-86
Selenious acid	P-86
Selenium dioxide	P-86
SN-O7	O-24
Sodium L-ascorbate	O-15
Sodium selenate	P-86
Sodium selenite	P-86
Sodium tetrachloroaurate (III)	P-32
Soy sauce	P-18
Spiramycin	P-45
S.S.M. (丸山ワクチン)	P-91
Steroids compounds	P-13
Sterigmatocystin	P-22
Steviol	P-67
Stevioside	P-67
N-Sulfoxy-2-acetylaminofluorene	O-28
5-Sulfoxymethylchrysene	O-28
7-Sulfoxymethyl-12-hydroxymethyl- benz(a)anthracene	O-28
7-Sulfoxymethyl-12-methyl- benz(a)anthracene	O-28
12-Sulfoxymethyl-7-methyl- benz(a)anthracene	O-28
Superoxide dismutase	O-31

T

Tannic acid	P-77
Thalidomide	P-27
Tobacco	P-9
o-Tolidine	P-41
TPA	O-15
Triethylenemelamine	P-39
Triose reductone	P-34
Triphenylene	O-4
Trp-P-1	P-35, P-41
Trp-P-2	P-35, P-81, O-30
Trypan blue	P-27
L-Tryptophan	P-19
Tyramine	P-21
Turmeric	P-83

U

Urethane	O-6
Urethane gas	O-14
Urine	P-82

V

Vanillin	P-75, P-76, O-33
Versicolorin A	P-22
Vincristine	P-52, P-69
Vinyl chloride resin	P-8
Vitamin A	O-34
Vitamin E	O-34

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賜りました。
ここに記して感謝の意を表します。

日本環境変異原学会第16回大会

会長 西 岡 一

- | | |
|-------------------------|-----------------------------------|
| (株) ア ド バ ン ス | 三 井 農 林 (株) |
| (株) ア イ ゼ ン | 三 井 製 薬 工 業 (株) |
| 安 全 商 品 普 及 会 | 三 井 石 油 化 学 工 業 (株) |
| 安 全 商 品 普 及 会 松 阪 | 森 永 乳 業 (株) |
| (株) ア オ バ ス ピ ル リ ナ | 無 添 加 食 品 販 売 協 同 組 合 |
| 中 外 製 薬 (株) | 日 本 バ イ オ ア ッ セ イ 研 究 セ ン タ ー |
| 大 日 本 製 薬 (株) | (株) 日 本 バ イ オ リ サ ー チ セ ン タ ー |
| 栄 研 イ ム ノ ケ ミ カ ル 研 究 所 | 日 本 ベ ク ト ン デ ィ ッ キ ン ソ ン (株) |
| エ ー ザ イ (株) 川 島 工 場 | 日 本 化 薬 (株) |
| 藤 沢 薬 品 工 業 (株) | 日 本 コ カ ・ コ ー ラ (株) |
| 八 王 子 消 費 者 の 会 生 協 | 日 本 メ ナ ー ド 化 粧 品 (株) 生 化 学 研 究 所 |
| ホ ー ユ ー (株) | 日 本 生 活 協 同 組 合 連 合 会 |
| 保 健 化 学 研 究 所 | 日 本 シ ェ ー リ ン グ (株) |
| (株) 伊 勢 半 | 日 本 新 薬 (株) |
| 鐘 淵 化 学 工 業 (株) | 日 清 化 学 (株) |
| キ ッ コ ー マ ン (株) | (株) ノ エ ビ ア |
| (株) 小 林 コ ー セ ー 研 究 所 | 大 高 酵 素 (株) |
| 小 西 六 写 真 工 業 (株) | 大 塚 化 学 (株) 鳴 戸 工 場 |
| キ ャ ノ ン (株) | 大 塚 製 薬 (株) 大 塚 ア ッ セ イ 研 究 所 |
| 京 都 薬 品 工 業 (株) | (株) 大 塚 製 薬 工 場 |
| 御 木 本 製 薬 (株) | 岡 本 製 作 所 |
| 三 基 商 事 (株) | ラ イ オ ン (株) |

理研化学工業(株)
 サントリー(株)研究センター
 サントリー(株)食品研究所
 サッポロビール(株)
 沢井製薬(株)
 生活クラブ生協
 塩野義製薬(株)研究所
 消費者センター生活協同組合
 昭和電工(株)
 信越化学工業(株)
 住友化学工業(株)
 タバイエスペック(株)
 大鵬薬品工業(株)徳島研究所
 大正製薬(株)

高砂香料(株)
 武田薬品工業(株)
 (株)立石ライフサイエンス研究所
 帝人(株)中央研究所
 帝国臓器製薬(株)
 東洋紡績(株)
 東洋インキ製造(株)
 (株)ワコー
 八重山殖産(株)
 山発産業(株)
 山之内製薬(株)
 吉富製薬(株)
 (株)ユニチカ環境技術センター
 (ABC順)

新刊案内

CARCINOGENIC AND MUTAGENIC EFFECTS OF DIESEL ENGINE EXHAUST

ディーゼル機関廃ガスの発がん性および変異誘発性への影響

Proceedings of the International Symposium on Toxicological Effects of Emissions from Diesel Engines held in Tsukuba, Japan, 26-28 July, 1986 (Developments in Toxicology and Environmental Science, 13)

edited by N. Ishinishi, A. Koizumi, R.O. McClellan and W. Stöber
 1986 xii+540
 Price: Dfl. 300.00 (概価 ¥33,000)
 ISBN 0-444-80854

Contents: Opening Remarks/Chemical Characterization of Diesel Exhaust Emissions/Biological and Mutagenic Assays of Diesel Soot/Disposition and Metabolism of Diesel Soot Constituents/Long-Term and Experimental Animal Tests/Chronic Inhalation Experiments/Special Lecture/Round Table Discussion. Conclusion and Recommendations/Author Index/Subject Index

ONCOGENES AND GROWTH FACTORS

発癌遺伝子と成長因子

edited by R.A. Bradshaw and S.J. Prentis

異常な細胞増殖の詳細な細胞メカニズムに関する分野の研究を展望している。

1987 x+306 pages
 Price: £12.00 (概価 ¥4,320)
 ISBN 0-444-80827-2

注文先: ELSEVIER PUBLICATIONS (CAMBRIDGE), 68, Hills Road, Cambridge CB2 1LA U.K.

- ご注文は最寄りの洋書店へ。
- エルゼビア出版物に関するお問い合わせ・資料のご請求は、

エルゼビアサイエンスパブリッシャーズ日本支社
 〒113 東京都文京区湯島3-28-1 ☎(03)836-0810 FAX (03)836-0204



ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS

P.O. Box 211, 1000 AE Amsterdam, The Netherlands

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 μmoles/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	BC-001
	5g×5	BC-002

〔吸着分離可能な物質例〕

- 加熱処理した食品中の変異原、ベンゾ(a)ピレン、ニトロピレン、アミノフルオレン等の多環芳香族炭化水素系化合物。
- 多環性構造をもつ抗生物質(ダウノマイシン等)。
- 色素類(エチジウム、クリスタルバイオレット等)。



※詳細につきましては「ブルーコットンカタログ」および「フナコシ技術レポートNo.27」をご請求下さい。

フナコシのライフサイエンス研究用試薬と機器

フナコシ

フナコシ薬品株式会社

〒101 東京都千代田区神田駿河台2-3

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

オリエンタルのBioresearch Services

変異原性試験用試薬

S-9 ラット肝 ホモジネート

RAT LIVER 9,000×g SUPERNATANT FRACTION

誘導：Phenobarbital, 5, 6-Benzoflavone, i. p.

検定：生化学的特性及び生物学的活性の検定値を添付します。

	包装単位	標準価格
S-9 2ML	2ml × 10本	¥28,000

Cofactor (S-9 Mix 用) 凍乾品

S-9 Mix 中の名成分濃度は労働省「ガイドブック」に基づきます。

	包装単位	標準価格
Cofactor S-9Mix	10ml用 × 10本	¥15,000

クリメディア® AM培地

GMP適合工場で最高品質の原料を用いて調製されたエームテスト用の最少グルコース寒天培地です。組成は労働省「ガイドブック」に基づきます。

安全性試験受託

nbr 株式会社 日本バイオリサーチセンター

岐阜県羽島市福寿町間島6-104

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

受託項目

一般毒性試験、生殖試験、変異原性試験、抗原性試験、局所刺激性試験

生化学試薬及び実験動物用飼料も御愛用下さい。

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



オリエンタル酵母工業株式会社

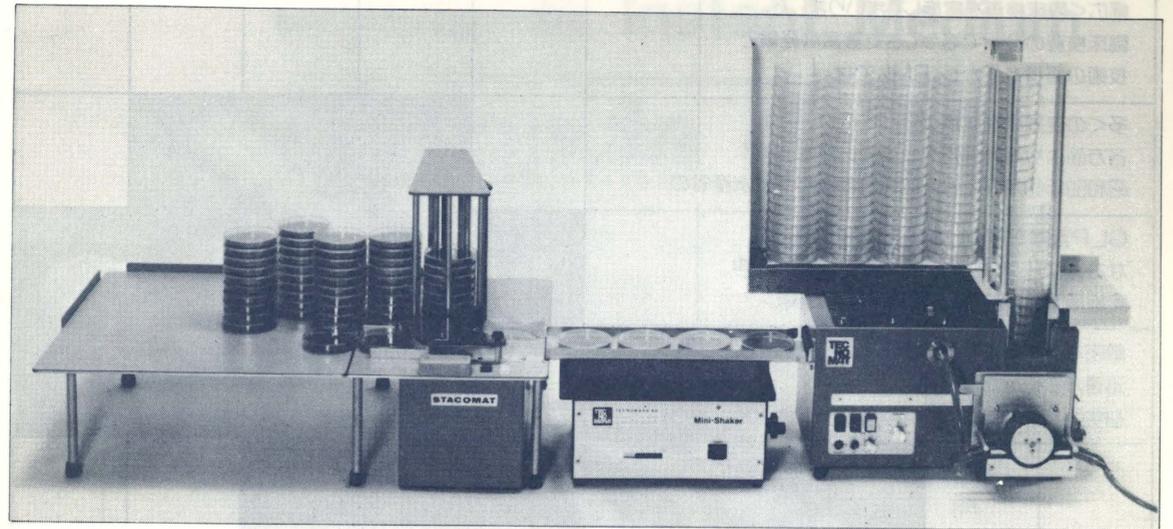
バイオ関連事業部

〒103 東京都中央区日本橋小伝馬町10番11号

TEL 03(663) 8218

TEC
NO
MARA

NEW テクノマット システム



テクノマット125 培地自動無菌充填器

- 30ml分注の場合、1時間当り680枚の平板培地が作成できます。
- 内部チャンバーは取りはずしてオートクレープでき、UVランプで常時無菌が保てます。
- シャーレ搬送中にトラブルが起ると、自動的に停止します。

テクノプロント100

- テクノマットへ自動的にシャーレを供給する装置です。
- 空シャーレを補給する手間が大巾に省けます。
- 正面からシャーレを積載できます。
- テクノマットの後方に設置するので、余分なスペースを必要としません。

スタコマット501 シャーレ自動積上器

- サイズの異なるシャーレでも、サイズ調節機構によって水平に積上げます。
- 積上げ枚数は、1~15枚の間で設定できます。
- 積上げずに、1枚ずつ送り出すこともできます。

ミニシェーカー400

- 50~150/minの軌道振動により、少量の培地でも均一に拡散できます。
- 二層培地を作る場合も、上層培地を均一に拡散します。
- テクノマットとスタコマットの間に設置し、シャーレが移動する間に冷却凝固します。



菌液自動分注装置

ソフトアガー自動分注装置



アガースティライザー



手動式コロニーカウンタ



自動コロニーカウンタ

〈医理化機器並に医薬品輸入販売〉



株式会社 東京エム・アイ商会

〒104 東京都中央区新川2-7-1
TEL. (03)551-7873(代) TLX. 252-4657

登録衛生検査所としてながい歴史をもつBML。
一般検査から特殊検査まで

幅広く臨床検査を実施してまいりました。
臨床検査の分野で培ってきた豊富な経験と
技術の蓄積を生かし、BMLでは

多くの変異原性試験の受託を行い、
各方面より高い評価を受けています。
昭和59年10月厚生省、昭和61年1月農林水産省の

GLP査察を終了しました。
なお、実施にあたっては、委託者と研究内容、
実施期間、機密保持、記録保存等に関し、

厳密な契約書を作製の上、
迅速かつ正確に試験、
研究を行います。

変異原性試験内容

1. 微生物を用いる復帰突然変異試験(エームス法)
2. 微生物を用いる感受性試験
(rec-assay: ストリーク法、孢子法)
3. 培養細胞を用いる染色体異常試験
4. げっ歯類を用いる小核試験

変異原性試験は、BMLへ。

BML

SOGO BIOMEDICAL LABORATORIES

株式会社 相互生物医学研究所

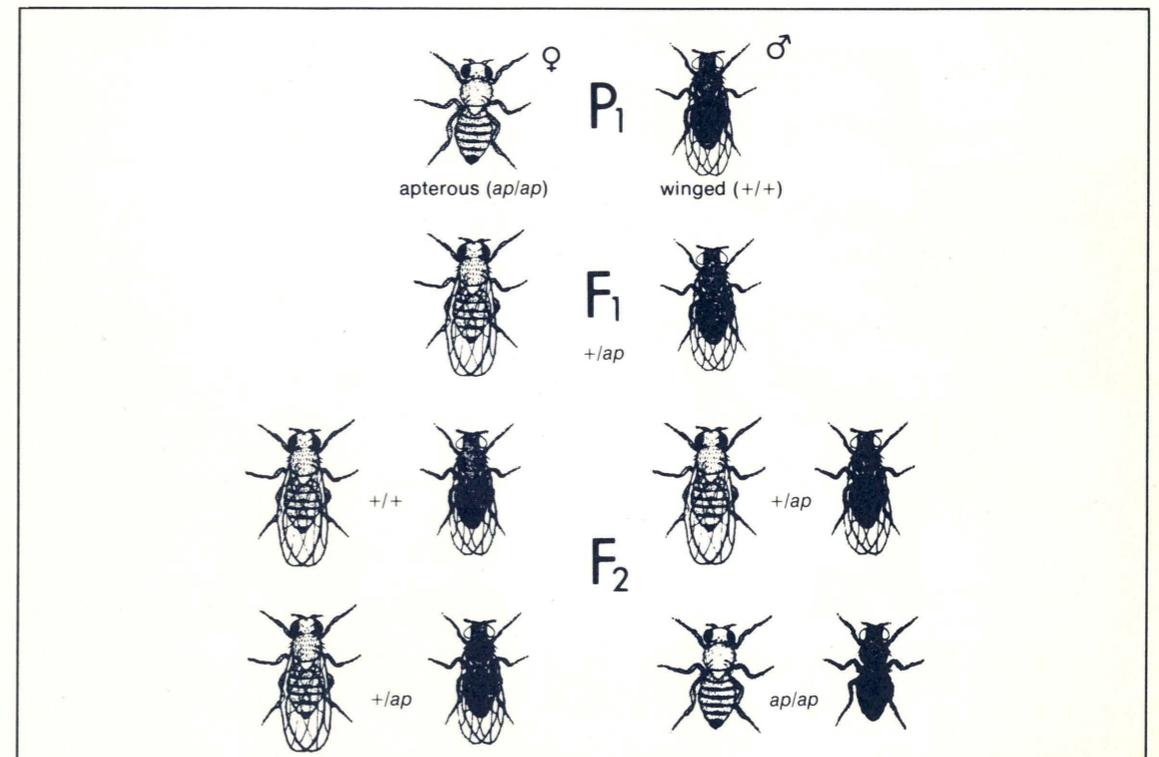
お問い合わせ先: 〒350 埼玉県川越市の場1361-1 TEL.(0492)32-0451(代表) 安全性試験部 内線330

ショウジョウバエによる遺伝学研究・変異原試験用試薬

Drosophila Instant Medium

Formula 4-24[®]

- 水の添加のみで完全培地が調製可能
- 培地は1分以内でセットアップ
- 再現性の高いデータが得られます



A cross between sex-marked flies involving genes for apterous and wild type wings.

Drosophila Instant Medium

Formula 4-24[®] Plain 1l 用

Formula 4-24[®] Blue 4l 用

(青色色素添加品)



発売元
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 電話 大阪(06)203-3741(大代表)
東京支店 東京都中央区日本橋本町4丁目5番13号
〒103 電話 東京(03)270-8571(大代表)

製造元
Carolina Biological Supply Company

2700 York Road
Burlington, North Carolina 27215

mutation inhibitor & cell mutation process &
 mutagen inhibitor & mutagen activity &
 inactivator
 inhibit metabolic activation
 before damage DNA - inhibit

Formula 4-24

DNA repair modification
 adaptation

antimutagen

- Chemical reaction
- Physical adsorption
- Conjugative reaction

- Pseudo-antimutagen
- delay of growth
- cell killing
- Consumption of DNA
- universal or specific

System

mutagen for mutation induction
 posi. con.
 method for antimutation

anticarcinogen - anti initiator & antipromoter

DNA saliva - 100% inactivation
 #122 - 200824
 Herbal Ext. 50% - 100%
 50% inactivation, 50% inactivation?

Green tea (茶葉抽出液) 50% inactivation

UMG & green tea ext. refer
 50% inactivation - safe
 v.c. 50% inactivation

100% inactivation + 100% inactivation → 100% inactivation
 100% inactivation (product) 100% inactivation
 100% inactivation 100% inactivation

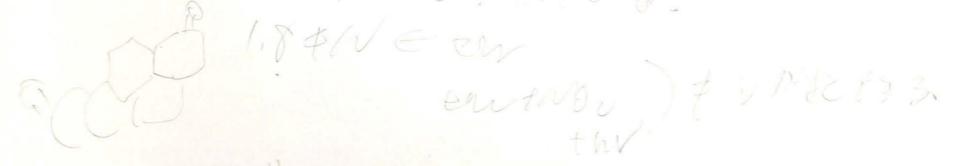
100% inactivation → 100% inactivation

100% inactivation → 100% inactivation

#2. 100% inactivation 100% inactivation
 100% inactivation 100% inactivation
 100% inactivation 100% inactivation

#3 (100% inactivation) 100% inactivation
 100% inactivation 100% inactivation
 100% inactivation 100% inactivation

#4 (100% inactivation) 100% inactivation
 100% inactivation 100% inactivation



1.8 FW in DNA, PBR922 & 100% inactivation
 100% inactivation 100% inactivation
 100% inactivation 100% inactivation

