

環境変異原により誘発された 生体内突然変異の解析と そのリスク評価

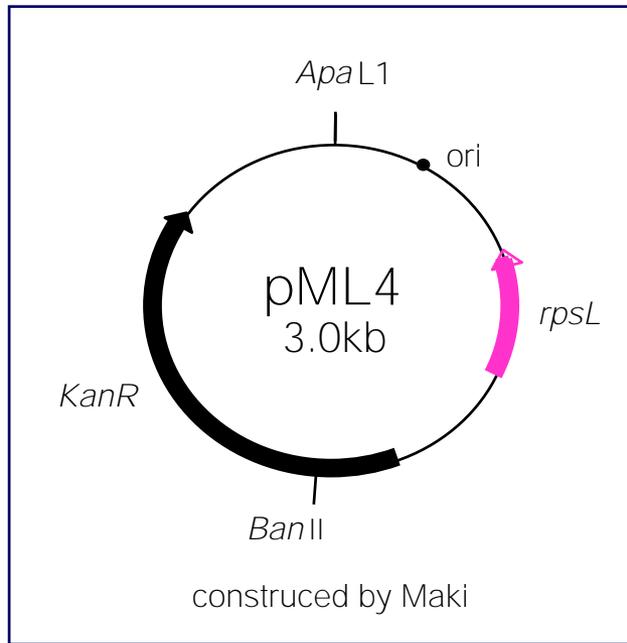
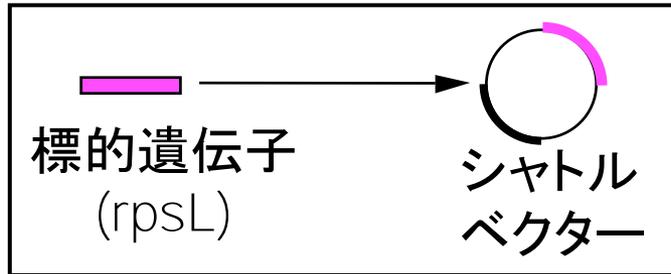
日本環境変異原学会
つくば

2016.11.17

国立環境研究所
青木康展

1. 変異原物質検出用トランスジェニック・ゼブラフィッシュの開発
2. 大気中浮遊粒子状物質による in vivo mutation 誘発
3. 感受性要因の解析
4. 変異原物質のリスク評価

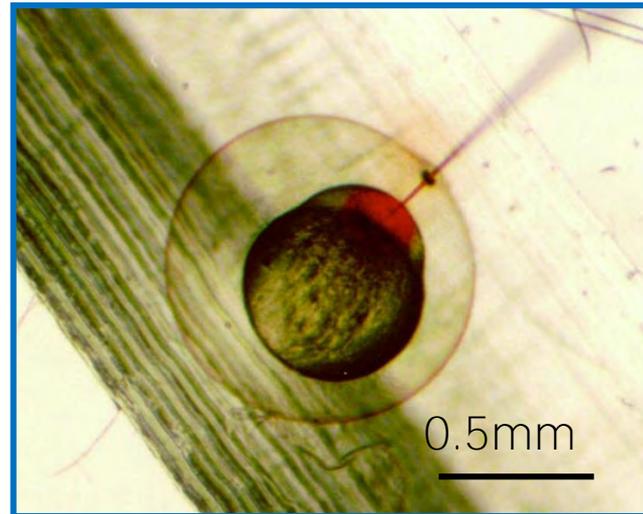
In vivo mutation検出用遺伝子導入 ゼブラフィッシュの作製



シヤトルベクター



ゼブラフィッシュ全身の細胞に標的遺伝子 (rpsL) が350コピー導入された



ゼブラフィッシュ受精卵へシヤトルベクターを注入する

水環境中の化学物質による突然変異を検出するための遺伝子導入ゼブラフィッシュ

© 2000 Nature America Inc. • <http://biotech.nature.com>

RESEARCH ARTICLES

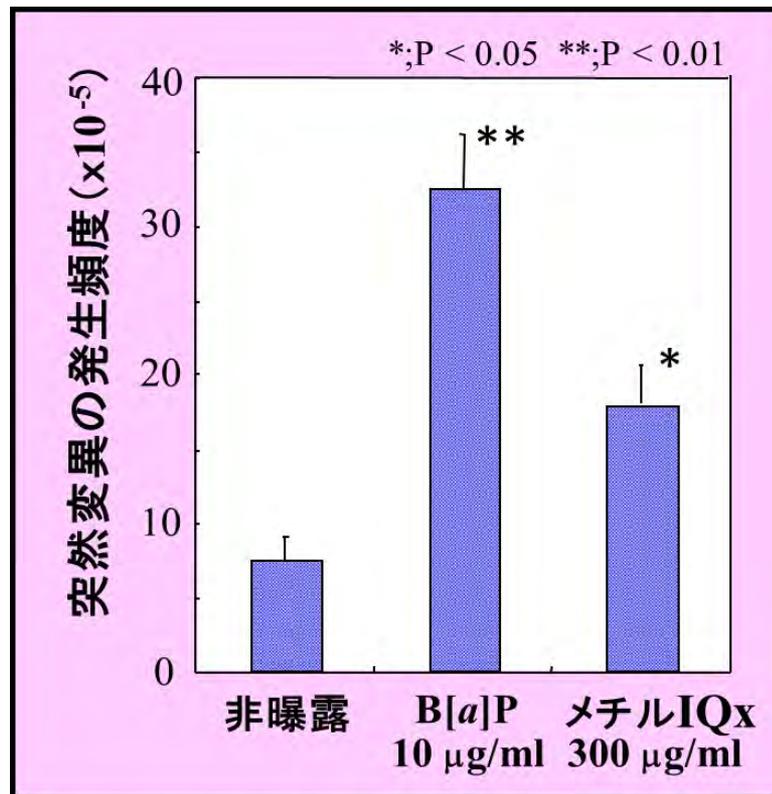
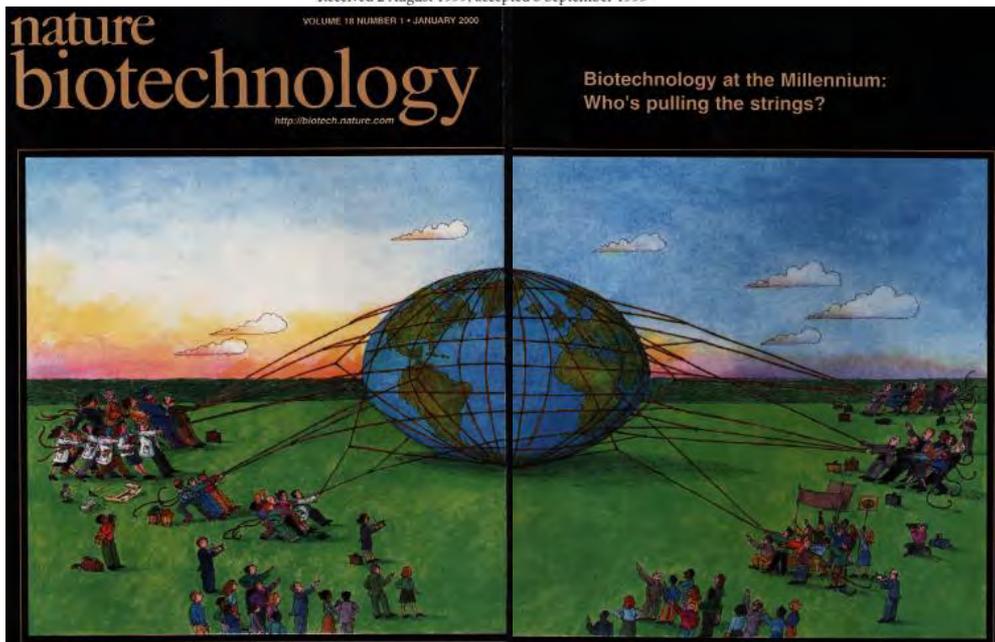
Nature Biotechnology 2000年1月

Transgenic zebrafish for detecting mutations caused by compounds in aquatic environments

Kimiko Amanuma¹, Hiroyuki Takeda², Hiroshi Amanuma³, and Yasunobu Aoki¹

¹Environmental Health Science Division, National Institute for Environmental Studies, Onogawa, Tsukuba 305-0053, Japan. ²Department of Molecular Biology, School of Science, Nagoya University, Chikusa-ku, Nagoya 464-8602, Japan. Present address: Division of Early Embryogenesis, National Institute of Genetics, Mishima 411-8540, Japan. ³Molecular Cell Science Laboratory, Tsukuba Life Science Center, The Institute of Physical and Chemical Research (RIKEN), Koyada, Tsukuba, Ibaraki 305-0074, Japan. *Corresponding author (amanuma@nies.go.jp).

Received 2 August 1999; accepted 8 September 1999

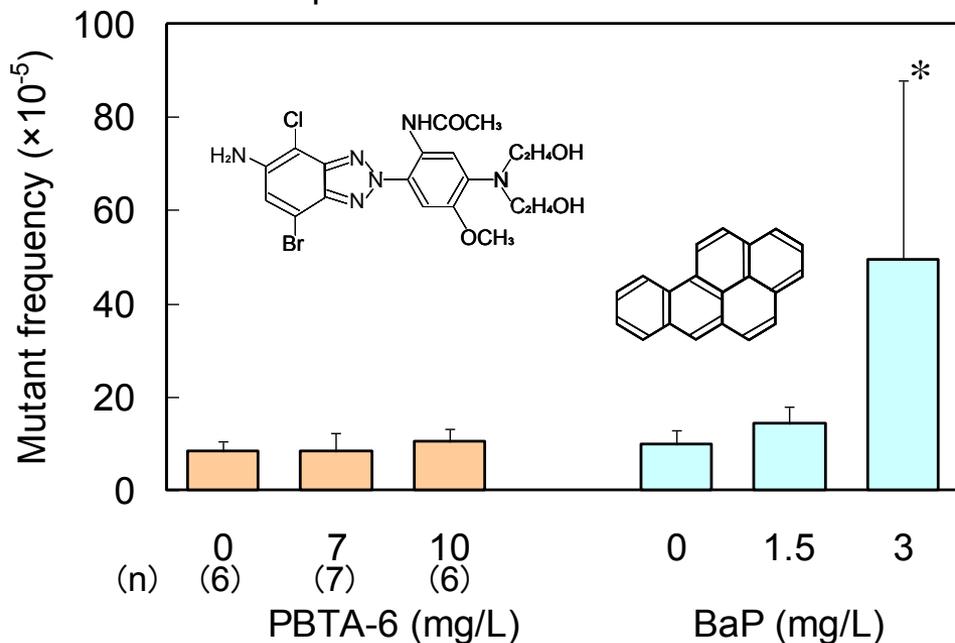


トランスジェニックゼブラフィッシュ(Tg-ZF)におけるPBTA-6 (河川水中で検出されたアゾ色素由来の化合物)の変異原性

PBTA-6 を7, 10mg/L でゼブラフィッシュに 96時間曝露した後, 定着期間を3週間おき, エラにおける突然変異頻度を観察した。

Mutant frequency in the gill of *rpsL* Tg zebrafish

- Comparison with BaP-treated zebrafish -



Mutagenicity of PBTA-6 and BaP

- Comparison between *in vitro* (Salmonella) and *in vivo* (zebrafish) -

Chemical	Ames test*		<i>rpsL</i> Tg fish mutation assay MF $\times 10^{-5}$ / 10 μ M**
	TA98	TA100	
PBTA-6	9180 (30000)	74.9 (58)	1 (3)
BaP	30.6 (100)	128 (100)	33 (100)

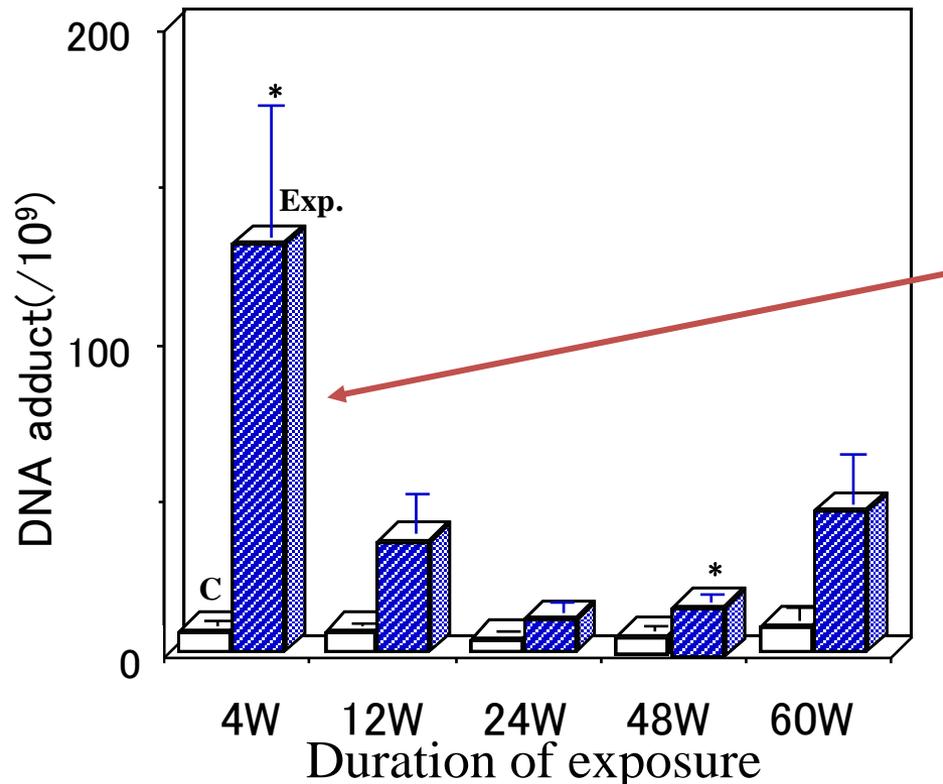
MF: mutation frequency

* with S9 mix

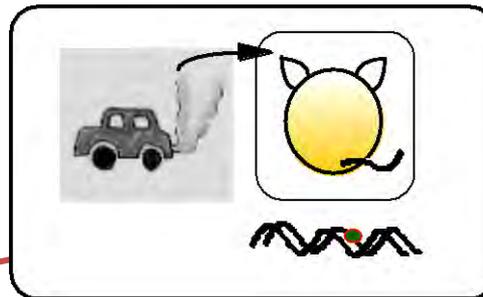
** MF was calculated from the data of 96h-exposed fish

PBTA-6 と BaP について Ames 試験 と Tg-ZF アッセイの結果を比較すると, 上の図表のようになる。Ames 試験 では BaP よりはるかに強い変異原性を示す PBTA-6 も Tg-ZF アッセイでは変異頻度の上昇が観察されなかった。

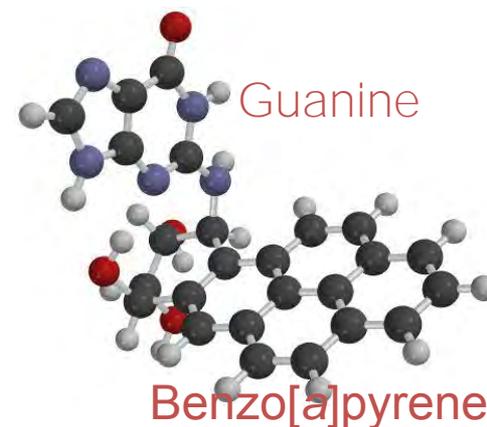
有害大気汚染物質の研究へ(1996年頃) 都市大気に曝露したラット肺でのDNA付加体の 生成を確認



(Sato H et al. Environ. Res. (2003) 93, 36-44)



Emission of automobile
e.g. Diesel Exhaust



肺で生成したDNA付加体は突然変異の原因となるか？

遺伝子導入動物へのディーゼル排気の曝露

ディーゼル排気は肺中で突然変異を誘導する

Inhalation

Diesel exhaust (DE)



Inhalation chamber

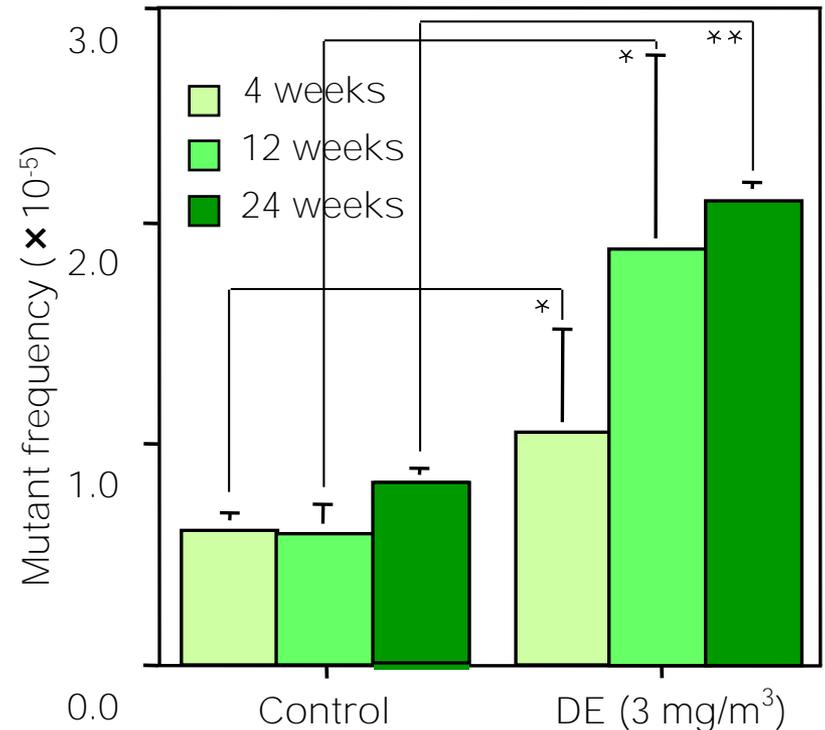
Instillation

PAHやディーゼル排気成分

Big Blue rat

H Sato et al. Carcinogenesis (2000) 48, 682-693

gpt delta mouse

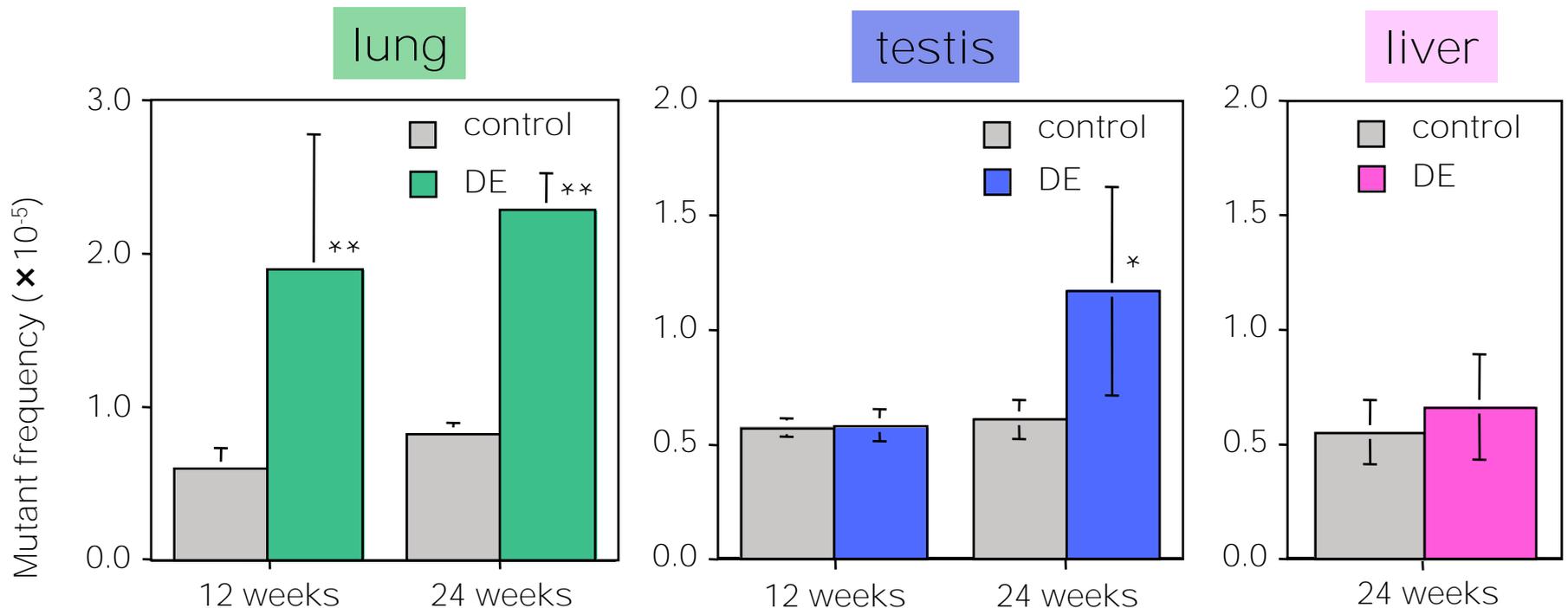


Control DE (3 mg/m³)

AH Hashimoto et al. Env. Mol. Mutagen. (2007) 48, 682-693

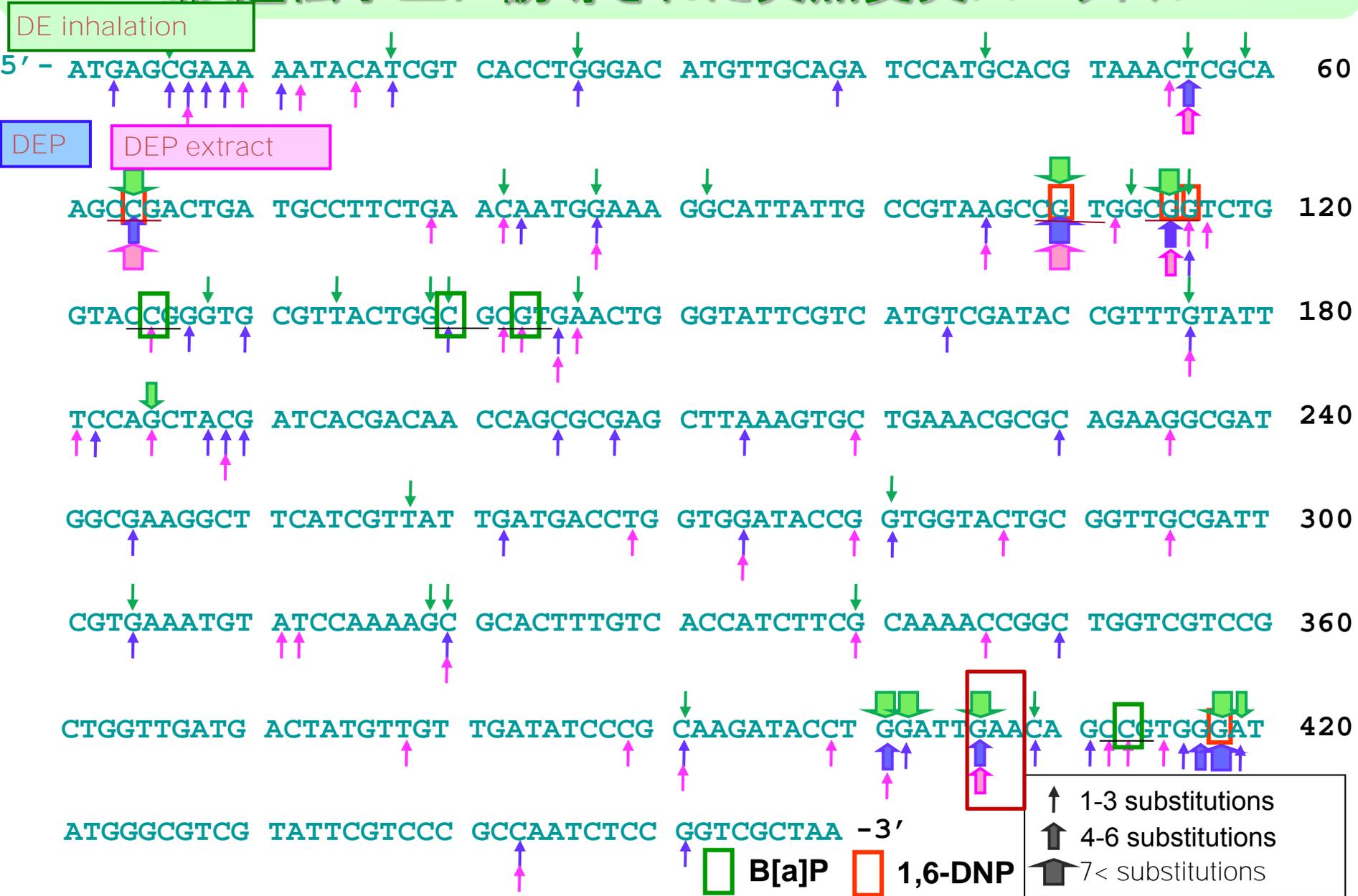
精巣におけるディーゼル排気曝露による突然変異誘導

(* : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$)



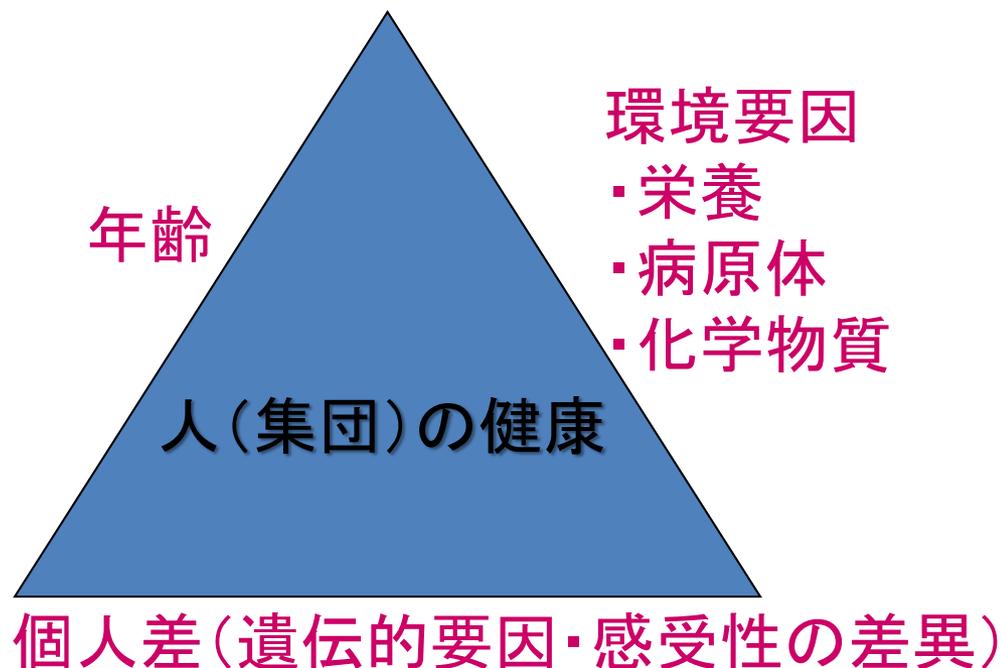
ディーゼル排気は *gpt delta* マウス精巣に突然変異を誘導する。精子に突然変異が誘導される可能性がある。

ディーゼル排気曝露、及びその成分の気管内投与により qpt遺伝子上に誘導された突然変異スペクトル



化学物質リスク評価： 感受性を考える

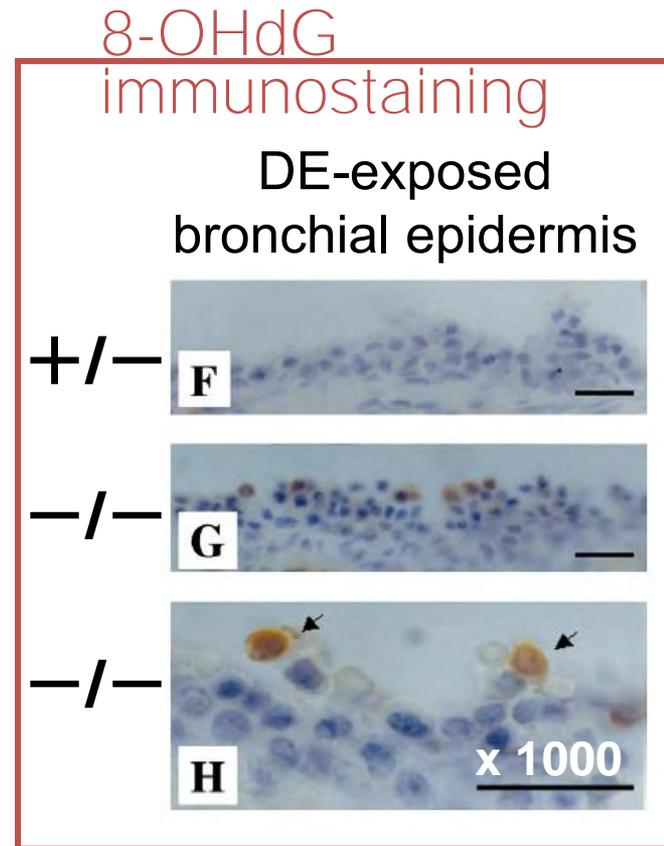
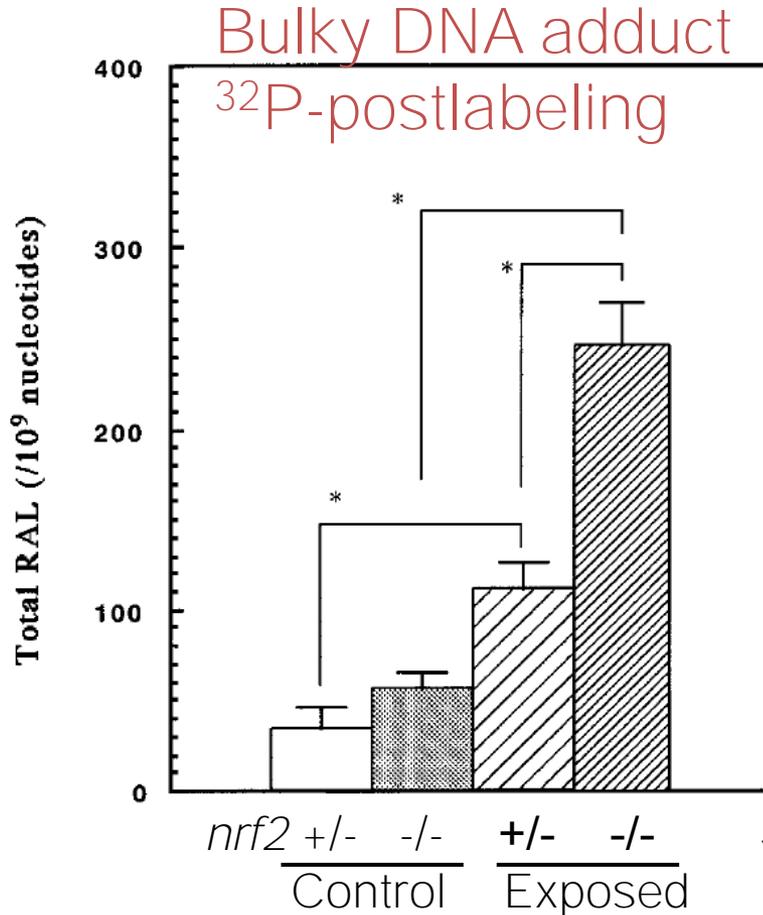
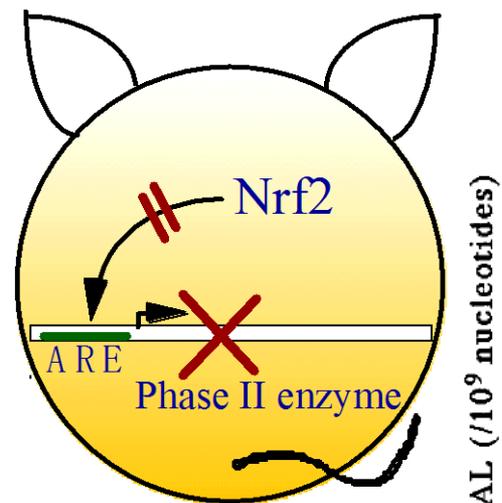
人の多様性と健康



地域の多様性

ディーゼル排気曝露によるNrf2-KO マウス肺でのDNA付加体生成の増加

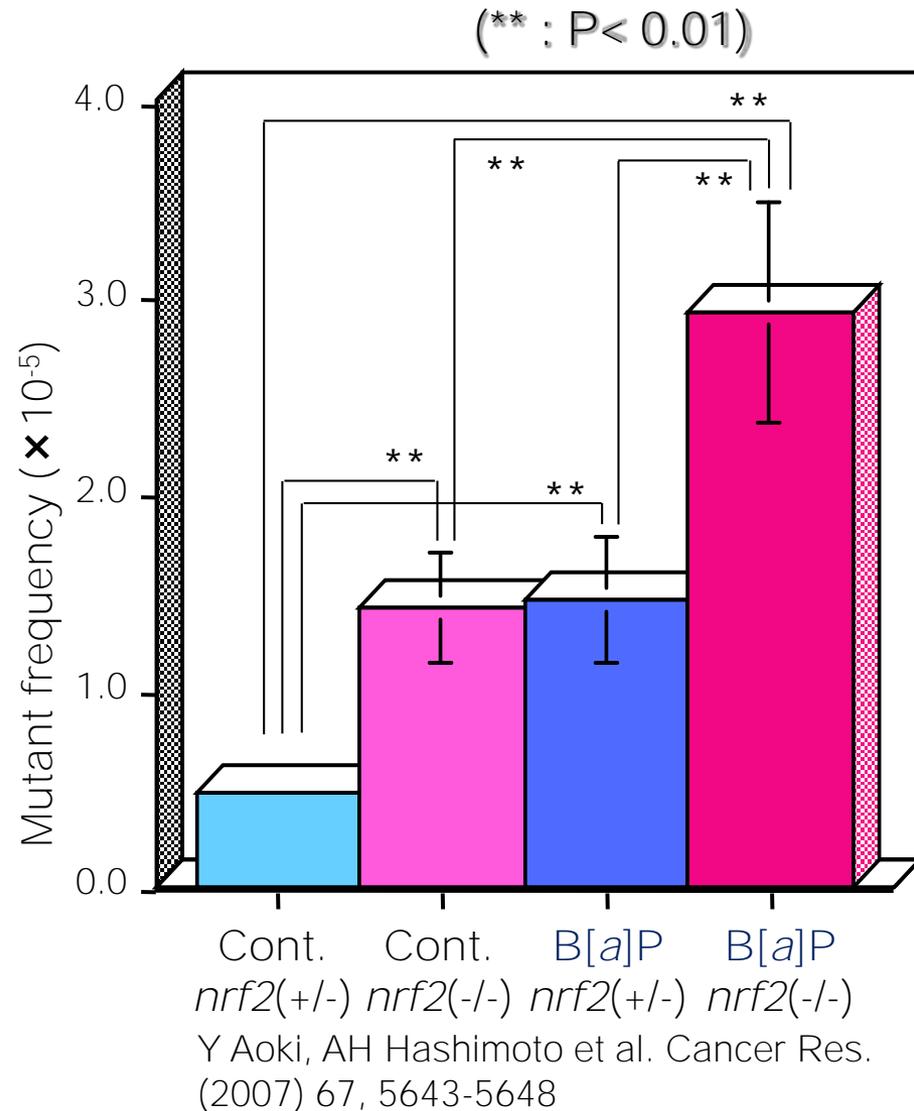
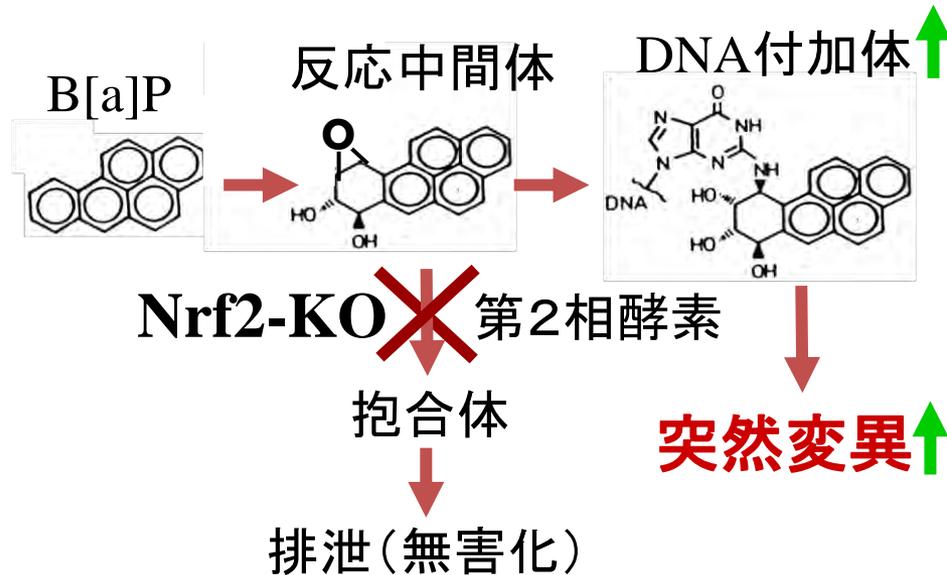
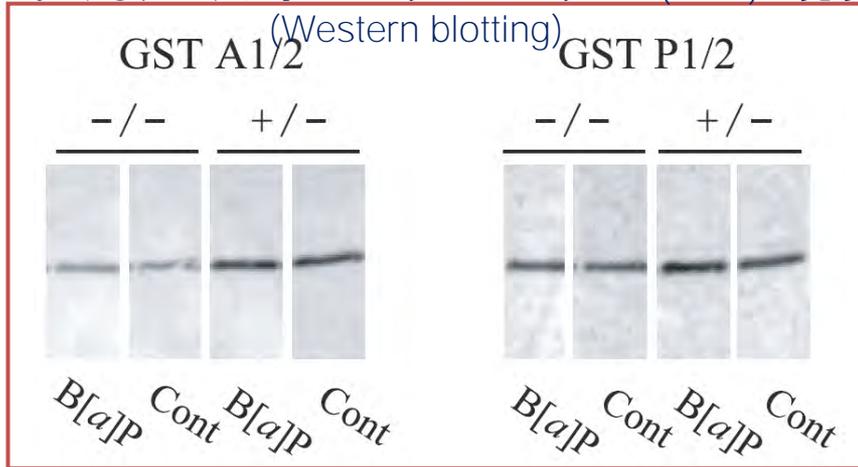
**Nrf2: 第2相薬物代謝酵素・抗酸化タンパク質
遺伝子の発現を促進する転写因子**



Y Aoki et al. Toxicol. App. Pharmacol. (2001) 173, 154-160

Nrf2をKOした *gpt* delta マウス肺での 突然変異頻度の上昇

肺におけるグルタチオンS-トランスフェラーゼ(GST)の発現



肺内に投与したBaPが示すMutation spectrumの 加齢による変化

Type of mutation in the <i>gpt</i> gene	Control (months)			B[a]P (months)		
	3	11	24	3	11	24
Specific mutant frequency ($\times 10^{-5}$)						
G:C→A:T	0.27	0.44	0.35	0.25	0.42	0.92**
G:C→T:A	0.12	0.18	0.14	1.39	0.40	0.41

リスク Risk とは

「好ましくないこと(事象)が起こること, その確率, 程度」

環境リスク ENVIRONMENTAL RISK とは

「ヒトや環境にとって, 起こってほしくないこと, 好ましくないこと(事象)が起こることと
その確率, 程度(重大さ)」

リスク = 有害性(ハザード) × 曝露量

リスク評価

有害性評価: Global, 万国共通

曝露評価: Local, 地域性

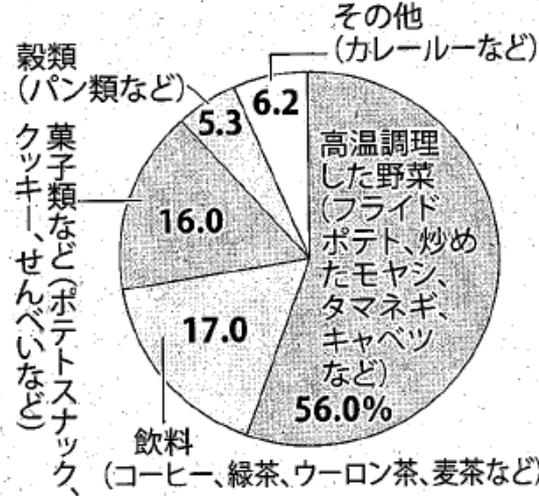
「懸念なしとはいえない」

食品安全委 アクリルアミド摂取

内閣府・食品安全委員会の作業部会は1日、高温で揚げたり炒めたりした野菜などに含まれる発がん性物質「アクリルアミド」の摂取と日本人の健康への影響について「リスクは極めて低いが、動物実験の結果から、懸念がないとはいえない」との最終評価の結果案をまとめた。食品安全委員会は摂取量を減らすよう促している。

作業部会(青木康展座長)は2011年からアクリルアミドのリスク評価を進めてきた。動物実験の結果から、懸念がないとはいえない」との最終評価の結果案をまとめた。食品安全委員会は摂取量を減らすよう促している。

アクリルアミドどこから摂取



調理の注意事項

- ①生ジャガイモは8度以上で保存し、高温加熱し過ぎない

きたポテトスナックなど菓子類は16%と少なかった。日本は欧州連合(EU)加盟国(0.4と1.9倍)より低く、香港(0.21倍)より低い。

モンテカルロ・シミュレーション

	摂取量 (μg/kg/day)	MOE
中央値	0.154	1,104
95パーセントタイル値	0.261	651
平均値	0.166	1,02

林水産省の最新データで日本人の平均推定摂取量は、体重1kgあたり1日0.24μg(マクドナルドの100万分の1)だった。どうしているかを約6割を占めたモヤシやフライドポテト、高温調理した食品はコーヒーなどの飲料。高いとされて

【小島正美】の結論になった。物実験でがんのリスクを推定した平均推定摂取量の近いことか念がないとは「この評価に」作業部会は「特に」を怖がる必要、高温での調理、短くするなど「がよい」とし

東京大学 武田洋幸

理化学研究所 天沼 宏

(株)LSIメディエンス
刀根 英 齊藤穂高
茂岡忠義

国立がん研究センター
戸塚ゆ加里

静岡県立大学 若林敬二

京都薬科大学 渡辺徹志

国立環境研究所 天沼喜美子(現:国衛研) 八谷-橋本顯子(現:九州
大学医学研究院) 中村卓(現:長浜バイオ大学) 長屋雅人
菅原良樹 (敬称略・順不同)



化学物質環境リスク研究センター
健康リスク評価研究室(2004年頃)

国立医薬品食品衛生研究所

能美健彦 増村健一

筑波大学医学研究科 高橋智

弘前大学医学研究科 伊東健

東北大学医学研究科 山本雅之

九州大学医学研究院

續輝久 大野みずき

エーザイ(株) 羽倉昌志



千葉大学薬学研究院 鈴木和夫

順天堂大学スポーツ健康科学研究科 後藤佐多良

東京女子医科大学 香川順 山野優子(現:昭和大学)

国立環境研究所 佐藤陽美 西村典子 曾根秀子

嵯峨井勝(青森県立保健大学) 荒井-日吉孝子(静岡県立大学)

柳澤利枝 高野裕久(京都大学) 後藤純雄(麻布大学) 野原恵子

河原純子 松本みちよ 松本理 宇賀田有紀 柳下真由子 中島大介