

学位論文審査の結果の要旨	
氏名	中村 賢志
審査委員署名	主査 鈴木和彦 副査 荒谷淳 副査 石井達哉 副査 古市達哉 副査 佐藤 洋
題目	Studies on the Modes of Action Underlying Acetamide-induced Hepatocarcinogenesis in Rats
審査結果の要旨	
<p>食品汚染物質である acetamide (AA) は、ラットに強い肝発がん性を示すことが知られている。本研究では、AA のラット肝発がん機序について検討した。</p> <p>第1章では、F344 <i>gpt delta</i> ラットに AA を種々の濃度で13週間混餌投与し、肝臓における <i>in vivo</i> 変異原性試験を実施した。その結果、いずれの濃度においても <i>gpt</i> 及び <i>Spi</i>⁻ 変異体頻度に有意な変化は認められなかった。一方、肝臓の病理組織学的検査では、発がん濃度で肝傷害性変化に加え、肝細胞に核酸染色である Feulgen 反応陽性の細胞質内封入体が高頻度に観察された。以上より、AA は肝臓に変異原性を有さないことが示され、AA 投与による染色体異常の誘発が疑われた。</p> <p>第2章では、F344 ラットを用いて肝臓及び骨髄の小核試験、並びに肝臓のコメットアッセイを実施した。その結果、骨髄小核試験は陰性であったのに対し、肝臓では小核及び大型の小核を有する肝細胞の有意な増加が認められた。一方、肝臓において DNA 損傷誘発は認められなかった。以上より、AA がラット肝臓特異的に染色体異常を誘発すること、並びに大型の小核が細胞質内封入体として病理組織学的に検出されることが明らかとなった。</p> <p>第3章では、病理組織学的に検出可能な大型の小核に着目し、第2章で得られたラット肝臓について、主に核膜やクロマチン、DNA 損傷に関する各種マーカーの蛍光免疫染色を実施した。その結果、大型の小核において核膜やクロマチン構造の異常、DNA 損傷の蓄積が進行性に認められことから、chromoanagenesis といった染色体再構成が AA の肝発がん</p>	

寄与する可能性が示された。

第4章では、AAの26-30週間投与により誘発されたラット肝臓腫瘍と、比較対照としてDENに引き続きフェノバルビタールを投与した肝2段階発がんモデルラットに誘発された肝臓腫瘍について全ゲノム解析を行った。その結果、肝2段階発がんモデルに比べてAA誘発腫瘍で広範なコピー数変異が多数の染色体に認められ、その変異パターンは個体間や腫瘍間で大きく異なっていたことから、AAの肝臓腫瘍において染色体再構成が生じている可能性が示された。

本研究により、AAの肝発がんには染色体異常による小核形成を介した染色体再構成が寄与することが明らかとなった。本研究は、食品汚染物質であるAAのリスク評価に資する基礎的データを提供することに加え、*in vivo*化学発がん過程における染色体異常の関与を明らかにした点で非常に有用であると思われた。

以上について、審査委員全員一致で本論文が東京農工大学大学院農学府共同獣医学専攻の学位論文として十分に価値があると認めた。

学位論文の基礎となる学術論文

題 目 : Chromosome aberrations induced by the non-mutagenic carcinogen acetamide involve in rat hepatocarcinogenesis through micronucleus formation in hepatocytes

著 者 名 : Nakamura, K., Ishii, Y., Takasu, S., Nohmi, T., Shibutani, M. and Ogawa, K.

学術雑誌名 : Archives of Toxicology

巻・号・頁・発行年 : 95(8) : 2851-2865, 2021

題 目 : Lack of *in vivo* mutagenicity of acetamide in a 13-week comprehensive toxicity study using F344 *gpt* delta rats

著 者 名 : Nakamura, K., Ishii, Y., Takasu, S., Nohmi, T., Shibutani, M. and Ogawa, K.

学術雑誌名 : Toxicological Sciences

巻・号・頁・発行年 : 177(2) : 431-440, 2020

既発表学術論文

題 目 : A 90-day subchronic toxicity study of Myrrh in F344 rats

著 者 名 : Mitsumoto, T., Ishii, Y., Namiki, M., Nakamura, K., Takasu, S. and Ogawa, K.

学術雑誌名 : Regulatory Toxicology and Pharmacology

巻・号・頁・発行年 : 127 : 105076, 2021

題 目 : A 90-day subchronic toxicity study of 5-methyl-2-phenyl-2-hexenal in F344 rats

著 者 名 : Nakamura, K., Ishii, Y., Takasu, S. and Ogawa, K.

学術雑誌名 : Food and Chemical Toxicology

巻・号・頁・発行年 : 150 : 112041, 2021

Summary of Graduation / Doctoral Thesis Assessment Results

Kenji Nakamura

Acetamide, a food contaminant, is known as a strong hepatocarcinogen in rats. The present study investigated the mechanism of acetamide-induced hepatocarcinogenesis in rats. In Chapter 1, *in vivo* mutagenicity assay revealed that AA induced Feulgen reaction-positive intracytoplasmic inclusions in hepatocytes with high frequency, despite no increase in mutant frequencies. These results suggest acetamide may cause chromosomal aberrations, while it was non-mutagenic in the liver. In Chapter 2, micronucleus assay and comet assay revealed increases in micronuclei and large micronuclei suggesting an induction of chromosomal aberrations without accompanying DNA damage. In addition, large micronuclei caused chromosomal rearrangements such as chromoanagenesis, which may contribute to hepatocarcinogenesis. Furthermore, whole genome sequencing of acetamide-induced hepatocellular tumors demonstrated chromosomal rearrangements. In conclusion, the present study revealed the contribution of chromosomal rearrangements to the hepatocarcinogenesis of acetamide via micronucleus formation due to chromosomal aberrations, and the involvement of chromosomal aberrations in the *in vivo* chemical carcinogenesis.

All members of the Board of the Thesis Assessment Committee of TUAT unanimously approved this Doctoral Thesis (in Philosophy), for its numerous findings covered, contents and structure, and the number of published articles.