

## P-079

### Aristolochic acid and Ochratoxin A; An etiology for Balkan Endemic Nephropathy

Takayoshi Suzuki<sup>1</sup>, Arihiro Kohara<sup>2</sup>, Ali Ramadan<sup>3</sup>, Yutaka Kikuchi<sup>4</sup>, Masamitsu Honma<sup>3</sup>, Makoto Hayashi<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Div. Cellular & Gene Therapy Products; <sup>3</sup>Div. Genetics & Mutagen.; <sup>4</sup>Div. Microbiol., Ntl Inst Health Sci; <sup>2</sup>Dep. Bioresources, Ntl Inst Biomed Innovation; <sup>5</sup>Biosafety Research Center Foods, Drugs and Pesticides

Balkan Endemic Nephropathy (BEN) is a chronic renal disorder seen along Danube River. Ochratoxin A (OTA), a mycotoxin found in contaminated food in this area, has been a great concern, but recently, Aristolochic acid (AA) hypothesis became more feasible.

AA (20 mg/kg) or OTA (15 mg/kg) was administered i.g. to male Muta<sup>TM</sup>Mouse weekly for 4 weeks. 48 h after the final treatment, various organs were subjected for mutation assay with *lacZ* and *cII* genes. MN assay was simultaneously performed and Comet assay was performed for OTA. AA induced extremely strong mutagenicity in kidney, bladder, forestomach and colon while other organs showed lower but significant increase in mutagenicity. In contrast, OTA induced almost no increase in all organs although Comet assay gave positive response. No increase of MN was observed with OTA and AA. These results demonstrated a preferential involvement AA for BEN etiology. Sequence analysis of AA-induced *cII* mutants revealed preferential induction of AT to TA transversions that matched with p53 mutation spectrum in tumors from BEN patients. With the molecular evidence, together with its strong mutagenicity, we confirmed AA as a causative mutagen for BEN.

バルカン腎症の原因物質としてのアリストロキア酸およびオクラトキシン A

鈴木孝昌<sup>1</sup>、小原有弘<sup>2</sup>、ラマダン アリ<sup>3</sup>、菊池 裕<sup>4</sup>、本間正充<sup>3</sup>、林 真<sup>5</sup>

国立医薬品食品衛生研究所 <sup>1</sup> 遺伝子細胞医薬部、<sup>3</sup> 変異遺伝部、<sup>4</sup> 衛生微生物部、<sup>2</sup> (独) 医薬基盤研究所 生物資源研究部、<sup>6</sup> (財) 食品農医薬品安全性評価センター

バルカン半島のドナウ川流域に見られる地域性の腎障害 (BEN) は、しばしば癌にまで発展する。これまでその原因物質として、カビ毒オクラトキシン A (OTA) の関与が疑われていた。しかし、最近になって、この地方に自生するウマノスズクサ科の植物由来のアリストロキア酸 (AA) が、有力な原因物質としてクローズアップされてきた。我々は 8 年前に偶然この二つの物質をトランスジェニックマウスを用いた変異原性試験で同時に試験していた。そして、AA は泌尿器系を中心として多臓器に臓器特異性を持って非常に強い変異原性を示し、*cII* 遺伝子のシーケンス解析から AT to TA トランスバージョンを特徴的に誘発することを報告した。その後、BEN 患者にて AA 由来アダクトが検出され、癌組織での p53 遺伝子の変異スペクトルが調べられた結果、我々が報告したマウスでのパターンと一致した。一方、OTA は、コメット陽性になったものの突然変異は全く誘発されなかった。我々はこれらの結果から、AA が BEN の原因物質であると結論づける。

## P-080

### A possible mechanism of static magnetic fields on the induction of micronuclei

Yuji Suzuki, Masateru Ikehata, Hiroyuki Yanagisawa  
Department of Public Health and Environmental Medicine,  
Jikei University School of Medicine

We have previously found that strong static magnetic fields (SMF) itself induce micronuclei and increase the frequency of micronuclei induced by several mutagens. In the present study, we investigated the effects of antioxidant chemical (ascorbic acid) on co-mutagenic effect of SMF and X-ray using *in vivo* mouse bone marrow micronucleus test. Moreover, 8-hydroxy-deoxyguanosine (8-OHdG) in bone marrow cells was determined to examine the status of oxidative stress.

BALB/c mice were treated with ascorbic acid 20 minutes before exposure to X-ray. Mice were then immediately exposed to a 5 tesla SMF for 24 hours. After exposure to the SMF, the micronucleus frequency and 8-OHdG concentration was determined.

The micronucleus frequency and 8-OHdG concentration induced by X-ray was increased by co-exposure to SMF, but this increase was inhibited by pretreatment with ascorbic acid.

From these results, it is suggested that SMF exposure would have a potential to enhance micronuclei in mouse bone marrow cells by affecting on behavior of free radical species produced within cells.

### 静磁場の小核誘発メカニズム

鈴木勇司、池畑政輝、柳澤裕之  
東京慈恵会医科大学環境保健医学講座

我々はこれまでに、磁場自身が小核を誘発し、変異原物質の小核誘発を亢進することを報告した。今回は、X線と静磁場複合曝露による骨髄細胞を用いた

小核誘発に及ぼす抗酸化剤 (アスコルビン酸) の影響を調べた。さらに、骨髄細胞中の 8-hydroxy-deoxyguanosine (8-OHdG) 濃度も調べた。

BALB/c マウスにアスコルビン酸を前投与してから 20 分後に X 線を曝露してから直ちに 5 テスラの静磁場を曝露した。曝露後 24 時間目に骨髄細胞を得て、May-Grünwald Giemsa 染色を施し小核誘発頻度を求めた。8-OHdG 濃度測定には ELISA Kit を用いた。

X線と静磁場を複合曝露することにより小核誘発頻度と 8-OHdG 濃度が、それぞれの単独曝露よりも高くなったが、アスコルビン酸を前投与しておくことで抑制された。

これらの結果から、静磁場曝露による小核誘発は、骨髄細胞中に誘導されるフリーラジカルの動態に影響されると考える。