
発癌物質の閾値決定に関与するプロモーターの研究

Studies on promoters of chemical carcinogenesis, with special reference to the role of promoters in determination of threshold levels

代表研究者 (財) 癌研究会癌研究所副所長 高山 昭三
Vice Director, Cancer Institute (Japanese Foundation for Cancer Research)
Shozo TAKAYAMA

協同研究者 名古屋市立大学医学部教授 伊東 信行
Professor, Nagoya City University Medical School Nobuyuki Iro

国立がんセンター研究所副所長 河内 卓
Vice Director, National Cancer Center Research Institute Takashi KAWACHI

(財) 癌研究会癌研究所部長 北川 知行
Chief, Department of Pathology, Cancer Institute Tomoyuki KITAGAWA

Carcinogenesis is understood to consist of at least two stages, initiation and promotion. The former is directly related to modification of DNA, and the latter to changes of the membrane associated with cell proliferation. This two-stage concept of carcinogenesis is supported by *in vivo* and *in vitro* experiments and epidemiological data. Various lines of evidence have suggested that the promotion step is the more relevant to human carcinogenesis.

1) Among 263 tested compounds, 54 gave a positive reaction in the first screening test, reddening of mouse ear on application of the compounds. Of these 54 compounds, 15 induced ornithine decarboxylase (ODC) activity *in vivo* in the second screening test. Of these, 5 induced adhesion of cultured HL-60 cells *in vitro* in the third test. Finally in the fourth test, a long term test on animals, 4 compounds were identified as true tumor promoters *in vivo*. These compounds are teleocidine B, dihydroteleocidin B, lynchbyatoxin A and aplysiatoxin. They are all effective at very low concentrations.

2) Factors influencing initiation were investigated in new experimental models with the aid of promotion. Various mutagenic compounds obtained from pyrolysis products of amino acids and proteins were also tested for ability to induce enzyme-altered foci in rat liver.

3) The dose-dependent promoting effects of chemicals on the induction of preneoplastic lesions in the rat liver and urinary bladder were investigated in *in vivo* short-term systems for detection of the promoting effects of chemicals. The organ specificity of the promoting effects of phenobarbital and sodium saccharin were also investigated.

4) The carcinogenic effect on rat liver of 3'-methyl-4-(dimethylamino) azobenzene (3'-MDAB) at various doses was investigated by measuring the number of enzyme-altered islands (EAI), which are putative precancerous lesions.

A few EAI were found in the liver of control rats, indicating the presence of background carcinogenesis. High oral doses of 3'-MDAB (60-300 ppm) induced a high incidence of EAI at 36 weeks of age, but low doses of the carcinogen (1-20 ppm) resulted in a significantly lower incidence than in controls. Subsequent experiments showed that the low doses of 3'-MDAB used increased hepatic microsomal cytochrome P-450 and S-9 activity.

The inhibitory effect of low doses of 3'-MDAB on background carcinogenesis may, therefore, be interpreted in terms of the Richardson phenomenon. The present results indicate the presence of a practical threshold for 3'-MDAB of between 20 ppm and 60 ppm.

研究目的

マウス皮膚癌の実験系から、また、最近是人も命めて発癌にはイニシエーションとプロモーションの過程があると考えられるようになった。そこでイニシエーション作用をもつ物質に閾値が設定できれば、癌の発生を未然に防止することができるであろうという仮説が成り立つ。これは閾値以下の量を用いれば、癌が発生しないからである。しかし、癌の発生にはプロモーター作用の関与も重要であり、このプロモーターに閾値が設定できれば同様に発癌には至らないであろう。この研究グループは、1)、発癌イニシエーターあるいはプロモーターに果たして閾値は存在するのか、また2)、イニシエーターの閾値の設定にプロモーターが関与しているのかなどについて研究を行ない、以下のような成果を得たので報告する。

研究経過

高山は以下の項目について研究した。

1、マウス皮膚における“パルス”イニシエーション・プロモーション系の開発

従来のマウスの皮膚発癌実験ではイニシエーターとして芳香族炭化水素 (DMBA など) を有機溶媒に溶かして皮膚面に塗布する方法がとられている。塗布された物質は一定期間停滞し、その間代謝を受けながら徐々に細胞にイニシエーションを形成すると考えられる。我々は発癌物質の水溶液を舌鉗子 (内径 2 cm) で結紮した ICR マウスの背部皮膚に皮下注射し、短時間 (60 分) 処理するイニシエーションの方法を考案した (以下鉗子法と呼ぶ)。鉗子法を用いると 1 回の発癌処理により、局所の上皮、間葉細胞の強い細胞障害を与えることができ、従来の皮膚塗布法では細胞内に浸透させることのむずかしい発癌物質を用いてイニシエーションが可能になった。また、鉗子法にオートラジオグラフィを併用し、不定期 DNA 合成 (UDS) を生体内で検出し、発癌物質が標的細胞の DNA と効果的に反応していることも証明した。UDS のレベルは表皮細胞では真皮細胞に比べ 3-5 倍高いことも示された。

鉗子法による“パルス”イニシエーションを各種発癌物質 (4 HAQO, MMS, MNU, ベンツピレ

ンジオールエポキシサイドなど) を用いて行ない経過を観察すると、“パルス”イニシエーションのみではほとんど腫瘍の発生はみられなかったが、TPA を週 3 回、120 日間背部皮膚に塗布を行なったところ、4 HAQO, ベンツピレンジオールエポキシサイドなどでは 50% 程度の動物に乳頭腫の発生がみられた。一方、MMS や MNU では、局所に有効な DNA 障害を惹起するような濃度でイニシエーションを行なったのにもかかわらず乳頭腫の発生は低率であった。したがって“パルスの”的に加えられた DNA 障害は十分に強力なものであっても、生体の DNA 修復機構によってすばやく修復され、“initiated cell”の発生を防止していることが示唆された。鉗子法では注射された発癌物質は局所の細胞の DNA と速やかに反応し、鉗子を緩めることにより発癌物質は局所から除かれる“hit-and-run”の効果を生体内で与えているものと推定される。

2. 細胞回転 (肝部分切除) の前癌性病変に及ぼす効果

ラットで、部分肝切除後 24 時間目に発癌物質を 1 回投与することにより、結節性肥大巣ないし肝癌が発生してくることはよく知られている。我々はこの手順を逆にして、発癌物質 (diethylnitrosoamine, DEN) を 1 回 SD ラットに腹腔内注射した後に、さまざまな時間の後に部分肝の切除を加える実験を行なった。ラットはその後プロモーションの目的で 0.5% フェノバルビタール食で 16 週間飼育し、肝を摘出し、肝の組織化学的検索を行なうことにより、ATPase deficient foci が形成されることを認めた。ATPase deficient foci の数は DEN 注射と部分肝切除までの間隔 (4 時間~7 日間) と逆相関を示した。また、DEN の処理のみで部分肝切除を加えないものでは foci の数はほとんど 0 であった。以上より“initiated cell”の形成には細胞回転が必要であること、DEN によって形成される DNA 障害は時間の経過とともに修復されていることが推察された。本実験の結果は、前述のマウスの皮膚実験とともに、生体内で DNA 修復が発癌防止に働いていることを示し、DNA 修復機構は少なくともパルスの発癌

処理に対しては、その閾値決定に関与している可能性を示唆している。

3. アミノ酸などの熱分解物質によるラット肝前癌性病変の誘導

近年アミノ酸やタンパク質の熱分解の過程で強い突然変異物質が生成されることが報告された。その後、それらの活性物質は精製され、化学構造も決定された。

我々はラット肝での前癌性病変を指標とする短期テスト法を工夫し、各種熱分解物質 (Trp-P-1, Trp-P-2, Glu-P-1, Lys-P-1, MeAαC, IQ) について検索した。方法は離乳期 SD ラットにこれらの物質を連続 5 日間腹腔内に注射し、次いでラットに部分肝切除を加えて細胞増殖を亢進させ、さらに 3 日間腹腔内注射を反復した。その後フェノバルビタール 0.05% 食で 16 週間飼育後、肝の酵素組織学的検索を行なった。その結果 Trp-P1, IQ, Glu-P-1 は多数の前癌性病変と考えられている ATPase deficient foci を形成、Lys-P-1, MeAαC も陽性であった。また、形成された foci 数はテストに用いた三つの用量について量反応関係が明らかであった。本法は、細胞回転の亢進している離乳期ラットに反復して十分量の被検物質を投与することにより、十分なイニシエーションを与えると同時に、プロモーターであるフェノバルビタールを追加投与することにより、肝臓に前癌性病変を高感度、かつ早期に誘導することを目的としたものである。

河内の研究成果は以下のごとくである。

発癌が二つの段階、すなわち、イニシエーションとプロモーションによることは一般によく知られている。環境発癌の立場から考える時にも、イニシエーターとプロモーターの二つの因子を考慮することが非常に重要である。環境発癌の際に重要なイニシエーターの短期検出は、既に我々の研究室で確立されている。そこで、環境に存在するプロモーターを短期に検出する方法の開発を第 1 の目的とした。マウスの皮膚に試料を塗布した後、皮膚のオルニチン脱炭酸酵素を測定する方法によってプロモーターを検索する方法を開発した。この方法を用いて、放線菌の菌糸体に存在する

Teleocidin および海藻、藍藻類、*Lyngbya* に含まれる Lyngbyatoxin と Debromoaplysiatoxin がまず、検出された。我々の短期テスト法、すなわち、発赤テスト、ODC 誘導テスト、HL-60 細胞の凝集テストで皆、陽性を示し、強力なプロモーターである可能性が考えられた。

マウスを用いた発癌二段階説に基づいた実験結果によると、放線菌に含まれる Teleocidin は、クロトン油 (植物、トウダイグサ科の種子油) に含まれる TPA と同等の強さのプロモーション作用を有することが証明された。すなわち、放線菌という土壌中の菌体の中に発癌を助長する因子が含まれていることが見いだされたわけである。

ハワイ、オアフ島のカハラ海岸に生育する藍藻類 *Lyngbya majuscula* が含む Lyngbyatoxin A は、海水浴での皮膚炎の原因物質としてハワイでよく知られていた。Lyngbyatoxin A は、Teleocidin と非常によく類似した化学構造をもっており、*in vitro* の実験結果によると Teleocidin と同様な、しかも同等の活性を示すので、この Lyngbyatoxin A も新しいプロモーターであると考えられた。

ハワイの海岸で採集した海藻から、マウス長期発癌実験に必要とされる量を大量に分離精製し、実験を行なった。100 μg の DMBA を CD-1 雌、8 週令の皮膚に塗布してイニシエートした後、30 μg の Lyngbyatoxin A を週に 2 回塗布し続けた。腫瘍発生頻度は、21 週で 80% に達した。1 匹の平均腫瘍数は 4 個であった。以上の結果より、Lyngbyatoxin A は強力なプロモーターであることが証明された。

Debromoaplysiatoxin については TPA や Teleocidin, Lyngbyatoxin A と全くその化学構造を異にし、また、新たな class の化合物として興味がある。ヒト前骨髄性白血病細胞を用いた分化促進の実験系で Debromoaplysiatoxin は、前者三つの化合物と、定性的、定量的に微妙な差異を示すことがわかった。プロモーションの過程は、多段階であると考えられるようになった現在、Debromoaplysiatoxin は、プロモーションのステップを細かく分類する尺度として使える可

能性をそなえた化合物であることもわかった。

その他、トウダイグサ科、シナアブラギリの中から、プロモーターと同様の性質を示す新しい化合物、12-*O*-hexadecanoyl-16-hydroxyphorbol-13-acetate, 12-*O*-hexadecanoyl-4-deoxy-16-hydroxyphorbol-13-acetate が検出された。同様にトウダイグサ科、*E. continifolia* の葉の中から 20-*O*-isobutyl-3-*O*-propionylingenol が分離された。

最近では、ジンチョウゲ科の根の中に daphnane type の diterpene ester があることも見いだされている。これらはさらに新しい class のプロモーターである可能性がある。

これらの新しい化合物がいずれも、短期検索法によりプロモーターとしての可能性を示唆されているように、プロモーションの研究において、短期検索法は、非常に有効な方法である。

プロモーターの発癌における意義を示す実験として、経胎盤イニシエーションを受けた子供のマウスの皮膚にプロモーターを塗布し、そのプロモーション効果を検討した。実験は、妊娠 17 日目のマウスに 60 mg/kg の量で DMBA を経口的にゾンデで投与した。生まれたマウスの皮膚に 2.5 μ g の Teleocidin を週に 2 回塗布した。腫瘍発生頻度は、ともに高い % を示した。この実験は、環境プロモーターの危険性を如実に語っている。

今後、ヒトの癌の原因としての環境プロモーターの役割について、特に各種臓器癌のプロモーターに関する研究のいっそうの進展が、癌の予防の観点から強く望まれる。

伊東はラット肝および膀胱の前癌病変を指標とし、イニシエーションとプロモーションの二段階より構成された比較的短期に発癌性化学物質を検索する方法を開発してきた。これらの二段階検索法を用い、化学物質のプロモーション作用について一連の実験を行ない、その特性の一端を明らかにすることができた。

I, 化学物質のプロモーション作用における用量効果および閾値について

i) 肝発癌のプロモーターである phenobarbi-

tal (PB) について: 8 週令の F 344 雄ラット 120 匹を用い、0.02% 2-acetylaminofluorene (2-AAF) 含有飼料を 2 週間投与してイニシエーションを行なった後、0.25, 0.05, 0.01 および 0.002% の 4 濃度の PB 含有飼料で 6 週間飼育した。PB 投与終了時に屠殺し、2-AAF による肝過形成結節の発生に対する PB のプロモーション作用を検索した。なお、2-AAF および PB の作用増幅のため、2-AAF 投与中に CCl_4 1 ml/kg b. w. を胃チューブで 1 回投与 PB 投与中に 2/3 肝部分切除を行なった。

その結果、PB 単独投与群には過形成結節の発生はなかったが、2-AAF でイニシエートした後、0.25, 0.05, 0.01% の PB 投与群で過形成結節の発生は、2-AAF 単独投与群に比し有意な増加がみられた。0.002% PB 投与群には有意な増加はなく、これらの PB による過形成結節発生の促進作用には、それらの数と大きさの両面で明らかな用量効果が認められた。本実験による 2-AAF 肝発癌に対する PB のプロモーターとしての閾値は、0.01-0.02% の間にあることが推察された。

ii) 膀胱発癌のプロモーターである Sodium Saccharin (SS) について: 6 週令の F 344 ラット雌雄それぞれ 300 匹を用い、イニシエーションとして 0.01% の濃度で *N*-butyl-*N*-(4-hydroxybutyl) nitrosamine (BBN) を飲料水に混じて 4 週間投与した後、5, 1, 0.2 および 0.04% SS 含有飼料にて 32 週間飼育した。SS 投与終了時、動物を屠殺し、膀胱粘膜の乳頭状ないし結節状過形成 (PN 過形成) の発生に対する SS のプロモーション作用を検索した。

その結果、SS 単独投与群では膀胱粘膜になんら変化はなかったが、BBN でイニシエートした群のうち、雄では 5%、雌では 5 および 1% SS 投与群で PN 過形成の発生は BBN 単独処置群に比し有意な増加があり、その発生率にも明らかな用量効果が認められた。本実験により BBN 膀胱癌発生過程に対する SS のプロモーション作用の閾値は 1-0.2% の間にあることが推察された。

iii) 胆汁酸の成分である deoxycholic acid (DCA) について: 7 週令の F 344 ラット 140 匹

を用い、dietylnitrosamine (DEN) の 200 mg/kg b.w. 腹腔内 1 回投与によるイニシエーションを行ない、その 2 週後より胆汁酸の成分の一つである DCA を 0.3, 0.12 および 0.06% の割合で飼料に添加して 6 週間投与し、肝の γ -glutamyltranspeptidase (γ -GT) 陽性細胞巢の発生に対する DCA のプロモーション作用を検索した。なお、実験開始 3 週間後に 2/3 肝部分切除を実施した。

その結果、DCA 単独投与群では γ -GT 陽性細胞巢はほとんどなかったが、DEN でイニシエート後の 0.3% DCA 投与群で γ -GT 陽性細胞巢の数および面積が、0.12% を投与した群では数が DEN 単独処置群に比し、有意に増加しており、明らかな用量相関をもって DCA の肝プロモーション作用が認められた。本実験により DEN 肝発癌に対する DCA のプロモーション作用の閾値は 0.12% 付近にあることが推察された。

iv) 肝発癌物質である 2-AAF, 3'-methyl-4-dimethylamino-azobenzene (3'-Me-DAB), ethionine について: iii) と同様の方法により既知の肝発癌物質のプロモーション作用の有無とその用量相関について検索した。7 週令の F 344 雄ラット 290 匹を用い、2-AAF は 0.02, 0.004, 0.008%, 3-Me-DAB は 0.06, 0.012, 0.0024%, ethionine は 0.25, 0.05, 0.01% の割合で飼料に添加して 6 週間投与した。

その結果、肝の γ -GT 陽性細胞巢の発生は、各発癌物質投与群において用量相関をもって有意な増加が認められた。これらのプロモーション作用のうち、2-AAF が最も強く、次いで 3'-Me-DAB, ethionine の順であり、肝発癌作用と相関した。

結論: 肝発癌物質である 2-AAF, 3'-Me-DAB, ethionine のほか、PB や DCA の肝発癌におけるプロモーション作用および SS の膀胱発癌におけるプロモーション作用が明らかな用量相関をもって認められた。また、それらのプロモーション作用には閾値の存在することが推察された。

II. プロモーターの臓器特異性について

2-AAF または BBN でイニシエートした後、PB ならびに SS を投与しプロモーターの臓器特

異性について検討した。

6 週の F 344 雄ラット 272 匹を 3 群に分け、第 1 群には 0.02% 2-AAF 含有飼料、第 2 群には 0.05% BBN 含有飲水を投与し、第 3 群はイニシエーターを投与しない対照群とした。各群をさらに A~C の 3 亜群に分け、5 週目より A 群には 0.05% PB, B 群には 5% SS 含有飼料、C 群には基礎食を 32 週間投与し、肝および膀胱を病理組織学的に検索した。

この結果、PB は、2-AAF 投与群では肝過形成結節と肝癌の発生を有意に上昇させ、BBN 投与群でも肝過形成結節の発生を軽度促進した。しかし、PB は 2-AAF あるいは BBN のいずれの投与群においても、膀胱に対してはなんら影響を及ぼさなかった。SS は 2-AAF 投与群の膀胱の PN 過形成の発生率を、BBN 投与群の PN 過形成の発生率と単位長当たりの発生数を有意に促進したが、肝に対してはなんら影響を与えなかった。

結論: PB および SS のプロモーション作用はそれぞれ肝・膀胱に限定され、プロモーターには臓器特異性があることが明確となった。また、BBN は肝にもイニシエーション作用をもつことが示された。

北川の研究は以下のとおりである。

低濃度における癌原物質の作用効果の正確な測定には、理論的にも実際的にもさまざまな困難が伴っている。しかし、微量に存在する環境中の癌原物質の、ヒト癌発生における意義を明らかにするために、この分野の研究は精力的に行なわれる必要がある。近年、発癌過程が起始 (イニシエーション) と促進 (プロモーション) の二つの局面に分けられることが明らかにされ、それぞれの局面について特性と機序が分析的に研究されるようになってきた。その結果、プロモーションには可逆性があり、また、他の癌原物質と同時に投与するとかえって発癌抑制的に作用する場合があることなどがわかってきた。プロモーターには閾値があると考えられる。

他方、通常の癌原物質は、起始と促進の両方の作用を併有しているとみなされる。一般に、薬物

は投与量が異なると全く異なった薬理作用を示すことが多い。癌原物質にも、そのようなことはないであろうか？ 高濃度では癌原性を示す物質が、低濃度ではその促進作用のみが前面に出るかもしれない、あるいはその促進作用が他の癌原因子による（背景）発癌に対し、抑制的に作用する可能性もある。そのような場合は、問題の癌原物質については、実際的に閾値が存在するということになる。

過去3年間、いろいろな癌原物質の低濃度における作用効果を、酵素変異小増殖巣 (enzyme-altered island: EAI) の誘導を指標に検討してきたが、3'-methyl-4-(dimethylamino) azobenzene (3'-MDAB) について予測を裏づける興味ある結果を得た。

ラットの肝には、24週令以降は、対照群にも、少数のEAIが出現し、これは年令とともに増加する。これは、いわば背景発癌で、飼料中に混入する微量の外來癌原物質や、体内で作られる癌原因子が関与していると考えられる。

さて、生後12週の雄ラットに3'-MDABを1~300ppmの濃度に飼料に混ぜて24週間投与し、生後36週目に殺してEAIの数を測定した結果を表1に示す。

60~300ppmにおいて3'-MDABは明らかに多数のEAIを誘導している。対照群では0.22/cm²ほどの頻度である。ところが20ppm

表1. Number of ATPase-deficient Islands at Week 24 Relative to the Dose of 3'-Me-DAB

Group	Dose of 3'-Me-DAB (ppm)	No. of ATPase-deficient islands/cm ² liver section at week 24 (mean±SE)
1	0	0.22±0.05 (8)
2	1	0.10±0.02 (6)
3	5	0.06±0.01 (8)
4	10	0.06±0.01 (7)
5	20	0.03±0.01 (9)*
6	60	1.51±0.63 (5)
7	100	3.14±0.98 (5)
8	300	5.06±1.01 (5)

No. in parenthesis: No. of animals.

* Significantly different from group 1 ($P < 0.01$).

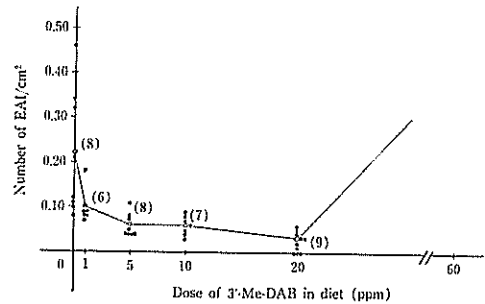


図1. Dose-response curve for low doses of 3'-Me-DAB ● Values of individual animals, ○ Mean

において、EAIの数は突然対照群の1/7に下り、1~20ppmの間では、いずれの値も対照群よりも低く、しかも用量に逆比例している。この関係をわかりやすく図に示すと図1のようになる。

すなわち、3'-MDABは、1~20ppmの低濃度

表2. The content of cytochrome P-450 of rat liver microsomes (nmol/mg protein)^a

3'-Me-DAB (ppm)	1 week	3 weeks
0	0.756±0.150 (10) ^b	0.849±0.131 (10)
1	0.738±0.045 (5)	1.000±0.193 (4)
10	0.779±0.068 (5)	1.044±0.117 (5) ^c
20	0.734±0.056 (10)	1.068±0.111 (9) ^d
60	0.840±0.104 (5)	1.000±0.124 (5)
600	0.722±0.094 (5)	1.082±0.072 (5) ^d

^a Mean±S.D. ^b Numbers in parentheses indicate numbers of animals. ^c $P < 0.05$ vs. control.

^d $P < 0.01$ vs. control.

表3. Metabolic activation capacities of liver S-9 fraction of control and 3'-Me-DAB-FED rats

3'-Me-DAB (ppm)	Nos. of revertant/mg protein ^a	
	3-MC (50 µg/plate)	Trp-P-2 (0.05 µg/plate)
0	140.4±23.7 (5) ^b	273.6±59.5 (5)
20	202.4±61.7 (5) ^c	232.8±35.2 (5)
300	267.8±66.1 (5) ^d	511.2±195.8 (5) ^c

^a Mean±S.D. ^b Numbers in parentheses indicate numbers of animals. ^c $P < 0.05$ vs. control.

^d $P < 0.005$ vs. control.

では、自らの癌原性を示さず、逆に背景発癌を抑制しているとみなされる。

他因子の癌原作用を抑制する機序としては、いろいろなことが考えられるが、肝細胞の下毒作用を亢進することが重要な要素に上げられる。メチルコランスレンのアゾ色素肝発癌抑制効果は、古くからリチャードソン効果として知られている。

そこで我々は、低濃度の 3'-MDAB を、1~3 週間ラットに投与し、薬物代謝系酵素がどのように誘導ないし賦活化されるかを調べた。表 2 は、肝小胞体中のケトクロマチ P-450 のレベルを生化学的に測定した結果であり、また表 3 は S-9 分画の活性を、TA 98 を用いる Ames のテストで、3-MC あるいは Trip-P-2 を変異原として測定したものである。いずれにおいても 3'-MDAB が 1~20 ppm の低濃度において、対照に比して有意に、肝の薬物代謝能を亢進させることが示されている。

高濃度では強力な肝癌原物質である 3'-MDAB は、低濃度では、自らの癌原性を示さず、逆に背景発癌を抑制する。すなわち 3'-MDAB には、癌原作用の閾値がある。背景発癌の抑制は、薬物代謝能の亢進一下毒作用の亢進によるものと考えられる。

発表論文

- 1) Takatoshi Ishikawa, Shozo Takayama, Tomoyuki Kitagawa, Takashi Kawachi, and Takashi Sugimura: Induction of enzymealtered island in rat liver by tryptophan pyrolysis products. *Cancer Res. Clin. Oncol.*, 95, 221-224 (1979).
- 2) Takatoshi Ishikawa, Shozo Takayama, and Tomoyuki Kitagawa: Correlation between time of partial hepatectomy after a single treatment with diethylnitrosamine and induction of adenosinetriphosphatase-deficient islands in rat liver. *Cancer Res.*, 40, 4261-4264 (1980).
- 3) Takatoshi Ishikawa, Kenichi Kodama, Fumio Ide, and Shozo Takayama: Demonstration of *in vivo* DNA repair synthesis in mouse skin exposed to various chemical carcinogens. *Cancer Res.* (in press).
- 4) Hirota Fujiki, Masami Mori, Michie Nakayasu, Masaaki Terada, and Takashi Sugimura: A possible naturally occurring tumor promoter,

teleocidin B from *streptomyces*. *Biochem. and Biophys. Res. Communications*, 90, 976-983 (1979).

- 5) Hiroo Hoshino, Masanao Miwa, Hirota Fujiki, and Takashi Sugimura: Aggregation of human lymphoblastoid cells by tumor-promoting phorbol esters and dihydroteleocidin B. *Biochem. and Biophys. Res. Communications*, 95, 842-848 (1980).
- 6) Michie Nakayasu, Hirota Fujiki, Masami Mori, Takashi Sugimura, and Richard E. Moore: Teleocidin, lymngbyatoxin A and their hydrogenated derivatives, possible tumor promoters, induce terminal differentiation in HL-60 cells. *Cancer Letters*, 12, 271-277 (1981).
- 7) R. Schmidt, H. Fujiki, E. Hecker, and T. Sugimura: Is the *in vitro* binding of phorbol esters to fractions of mouse skin a relevant probe for studies of *in vivo* promotion? *J. Cancer Res. and Clin. Oncol.*, 99, A42 (1981).
- 8) Hiromi Sakamoto, Masaaki Terada, Hirota Fujiki, Masami Mori, Michie Nakayasu, Takashi Sugimura, and I. Bernard Weinstein: Stimulation of prostaglandin production and choline turnover in hela cells by lymngbyatoxin A and dihydroteleocidin B. *Biochem. and Biophys. Res. Communications*, 102, 100-107 (1981).
- 9) T. Sugimura, H. Fujiki, M. Mori, M. Nakayasu, M. Terada, K. Umezawa, and R. E. Moore: Teleocidin: New naturally occurring tumor promoter. *Carcinogenesis*, 7, 69-73 (1982).
- 10) Hirota Fujiki, Masami Mori, Michie Nakayasu, Masaaki Terada, Takashi Sugimura, and Richard E. Moore: Indole alkaloids: Dihydroteleocidin B, teleocidin, and lymngbyatoxin A as members of a new class of tumor promoters. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 78, 3872-3876 (1981).
- 11) K. Nakanishi, M. Hirose, T. Ogiso, R. Hasegawa, M. Arai, N. Ito: Effects of sodium saccharin and caffeine on the urinary bladder of rats treated with *N*-butyl-*N*-(4-hydroxybutyl)-nitrosamin. *Gann*, 71, 490-500 (1980).
- 12) K. Nakanishi, A. Hagiwara, M. Shibata, K. Imaida, M. Tatematsu, N. Ito: Dose response of saccharin in induction of urinary bladder hyperplasias in Fischer 344 rats pretreated with *N*-butyl-*N*-(4-hydroxybutyl) nitrosamine. *J. Natl. Cancer Inst.*, 65, 1005-1010 (1980).
- 13) N. Ito, M. Tatematsu, K. Nakanishi, R. Hasegawa, T. Takano, M. Imaida, T. Ogiso: The effects of various chemicals on the development of hyperplastic liver nodules in hepa-

- tectomized rats treated with *N*-nitrosodiethylamine or *N*-2-fluorenylacetamide. *Gann*, 71, 832-842 (1980).
- 14) S. Fukushima, M. Hirose, A. Hagiwara, R. Hasegawa, N. Ito: Inhibitory effect of 4,4'-diaminodiphenylmethane on liver, kidney and bladder carcinogenesis in rats ingesting *N*-ethyl-*N*-hydroxyethylnitrosamine or *N*-butyl-*N*-(4-hydroxybutyl)-nitrosamine. *Carcinogenesis*, 2, 1033-1037 (1981).
 - 15) R. Hasegawa, H. Tsuda, T. Ogiso, M. Ohshima, N. Ito: Initiating activities of pyrolysis products of L-lysine and soybean globulin assessed in terms of the induction of γ -glutamyl transpeptidase-positive foci in rat liver. *Gann* 73, 159-159 (1982).
 - 16) K. Imakida, M. Hirose, T. Ogiso, Y. Kurata, N. Ito: Quantitative analysis of initiating and promoting activities of five mycotoxins in liver carcinogenesis in rats. *Cancer Letters*, 1982 (in press).
 - 17) O. Hino, N. Nemoto, M. Nagao, A. Kosugi, T. Kitagawa: Induction of drug-metabolizing enzymes in the rat liver by 3'-methyl-4-(dimethylamino) azobenzene. *Cancer Letters*, 15, 131-136 (1982).
 - 18) O. Hino, T. Kitagawa: Existence of a practical threshold dose for the hepatocarcinogen 3'-methyl-4-(dimethylamino)-azobenzene in rat liver. *Gann*, 72, 637-638 (1981).
 - 19) 樋野, 根本, 長尾, 小杉, 北川: 3'-Me-DAB 投与によるラット肝の薬物代謝系酵素の誘導について. 日病会誌, 71, (1982).
 - 20) 樋野, 渡辺, 北川: 3'-Me-DAB によるラット肝発癌における最小起始量の存在. 日癌会誌, 39, (1980).