

25-A-5 胆管癌等の職業性発がんの原因解明と発がんリスク評価に資するバイオマーカーの開発
戸塚 ゆかり (国立研究開発法人国立がん研究センター・研究所・発がん・予防研究分野)

研究の分類・属性

発がん・がん生物学

研究の概要

本研究では、化学物質への高濃度曝露により発症する「職業がん」の原因の探索と発がんリスク評価に資するバイオマーカーの探索を行なう。

1) 印刷業従事者にみられる胆管がん発症の原因究明に関する研究

印刷業に携わる従業員に胆管がんが多発していることが話題となっており、印刷業で使用される化学物質（ジクロロメタン(DCM)や1,2-ジクロロプロパン(DCP)）への慢性的な大量曝露が、これら胆管がんの発症要因となっていることが疑われているが、これらハロゲン系炭化水素と印刷業者で多発するヒト胆管がんとの関係は未だ良くわかっていない。

印刷業従事者の胆管癌4例のFFPE検体の全エクソン解析を行ったところ、既知の胆管癌関連遺伝子を含む1,451±1,089ヶ所のアミノ酸変異を伴う体細胞変異が検出された。この数はこれまで文献報告された肝吸虫関連胆管癌をはじめとする肝胆道系悪性腫瘍における体細胞変異にくらべて極めて高頻度であった(論文投稿中)。塩基置換のプロファイルにおいては、C:GからT:Aへのトランジションが約40~60%を占めていた。ゲノム解析のデータから、変異塩基とその両隣の3塩基について変異の発生頻度を解析すると、通常の胆管癌には観察されない、GpCpPy->GpTpPyに変異が多く検出され、特異的なシグネチャーを示すことが明らかとなった。また、それら変異はアンチセンス鎖に多く検出されており、通常の胆管癌には観察されなかったstrand biasが観察されることもわかった。一方、通常型胆道がんにおける特徴的なsignatureの解析を行った結果、肝内胆管癌は、肝外胆管癌や胆嚢癌とは異なるCpG->TG置換が優勢な加齢型置換パターンが多かったが、それに加えC->G/C->T置換優位なAPOBEC経路による置換パターンも観察された。これらの2つのsignatureにはstrand biasが観察されず、特定のDNA付加体による変異よりはDNA修復系の異常が原因であると推測された。また一部の胆道癌ではhypermutationを示すグループが見られたが、こうした症例を抽出して解析を行っても、印刷業関連胆管癌とは異なりCpG->TG置換が優位であった。さらに、*Salmonella typhimurium* TA100を用いてDCMおよびDCPのグローバルな変異解析を目的に、DCMおよびDCPで処理した*S. typhimurium* TA100の全ゲノム解析を行なった。DCMおよびDCPで処理した*S. typhimurium* TA100(DCM: 47クローン、DCP: 96クローン)の全ゲノム解析を行ったところ、観察された変異プロファイルは、DCMではC:G->A:TおよびC:G->T:Aがほぼ同程度であったのに対して、DCPではC:G to T:Aが主要であった。さらに、変異シグネチャー解析を行なったところ、DCPによる変異シグネチャーが印刷業従事者の胆管癌に観察された特異的なシグネチャーと一部が一致することがわかった。このことから、DCPの曝露が職業性胆管癌発症の一部に関与することが示唆された。一方、ヒト胆管癌より樹立した細胞株にDCMおよびDCPを単回または複数回曝露させ、全エクソン解析によるグローバルな変異解析についても検討した。その結果、印刷業従事者に観察された変異スペクトラムと同様にC:G->T:AおよびC:G->A:T変異が優位であったものの、DCM及びDCP曝露により胆管癌細胞に観察された塩基置換のシグネチャーは、印刷業従事者に認められたシグネチャーを完全に再現することはなかった。このことから(1)DCP、DCMが宿主特異的な代謝機構により変化する可能性、(2)宿主体内における免疫応答などの微小環境が変異を修飾し発がんに寄与する可能性などを引き続き検討する必要があると思われた。

2) アスベストおよび多層カーボンナノチューブ等のナノマテリアルに由来する中皮腫および肺がん診断マーカーの探索に関する研究

アスベストの曝露と中皮腫の発生は密接な関係があることがわかっているが、実際の腫瘍発生までは30~40年と非常に長い期間を要することから、有用な発がん予測および早期診断マーカーの開発が望まれている。また、近年、化粧品や医薬品等にナノマテリアルが多用され、ヒトへの健康影響や安全性に高い関心が集まっている。中で

も、多層カーボンナノチューブ(MWCNT)は形状がアスベストと類似しており、実験動物に中皮腫を誘発することが報告されており、MWCNTの発がんリスク評価に資するバイオマーカーの開発が必要である。そこで、本研究では、アスベストおよびMWCNT投与により実験動物に誘発した中皮腫および肺がん発症動物モデルを用いて、診断マーカー検索を行なうことを目標とする。動物モデルから得られた中皮腫検体並びに正常中皮細胞を用いて、全エクソームまたは全ゲノム、及び全転写産物解析を行い、融合遺伝子や遺伝子発現異常、特徴的な遺伝子変異の解析や塩基置換プロファイル等について検索を行なう。候補遺伝子等が明らかになってきたときには、ヒトサンプルで検証し、その生物学的な意義を追究する予定である。更に、多層カーボンナノチューブ投与による悪性中皮腫に関しても同様に解析を行う予定である。

研究経費

年 度	研究経費
平成 25 年度	10,000 千円
平成 26 年度	9,499 千円
平成 27 年度	8,978 千円
総 計	28,477 千円

研究班の組織

第3年次

研究者名	所属研究機関名・職名	分担する研究課題名・項目
戸塚ゆ加里	国立研究開発法人 国立がん研究センター研究所 発がん・予防研究分野・ユニット長	職業性胆管がん候補原因物質が誘発する遺伝子変異の解析および曝露評価 アスベストおよび多層カーボンナノチューブが誘発する遺伝子変異の解析および曝露評価
柴田 龍弘	国立研究開発法人 国立がん研究センター研究所 疾病ゲノムセンター がんゲノミクス研究分野・分野長	高速シーケンサーを用いた胆管がんにおける遺伝子変異検索
土原一哉	国立研究開発法人 国立がん研究センター 早期・探索臨床研究センター トランスレーショナルサーチ・分野長	高速シーケンサーを用いた胆管がんにおける遺伝子変異検索
中森正二	国立病院機構大阪医療センター・ 副院長	胆管がん組織の収集と臨床データの解析
落合淳志	国立研究開発法人 国立がん研究センター研究所・ 副所長	胆管がんの病理学的検索

豊國伸哉	名古屋大学大学院医学系研究科 病理病態学講座生体反応病理学・分子病理診断学・教授	アスベスト繊維や多層カーボンナノチューブによる動物中皮腫モデルの解析
梅田ゆみ	中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター 病理検査室・室長	実験動物におけるDCM, 1, 2-DCP誘発腫瘍組織の提供と病理組織学的な解析

研究の目的と到達目標及び実績要点

全期間

(目的と到達目標)

- 1) 印刷業従事者にみられる胆管がん発症の原因究明
印刷業従事者を含む若年発症の胆管癌 FFPE 検体の遺伝子変異解析を行い、通常胆管がんの遺伝子変異データと比較することで、職業性胆管がんに特徴的な遺伝子変異のパターンを見出し、*in vitro*および*in vivo*における発がん物質誘導変異プロファイルとの関連から印刷業従事者において多発する胆管がんの原因物質を探索する。
- 2) 胆管癌原因候補化学物質への曝露状況の把握並びに発がんリスク評価に有用なバイオマーカーの探索
胆管癌原因候補物質への曝露状況の把握に有用なバイオマーカーの探索および、これら化学物質の代謝に係る酵素の多型を胆管がん発症予測へ応用することの妥当性について検討する。
- 3) アスベストおよび多層カーボンナノチューブ等のナノマテリアルに由来する中皮腫および肺がん診断マーカーの探索
アスベストおよびMWCNT 投与により実験動物に誘発した中皮腫および肺がん発症動物モデルを用いて、診断マーカー探索を行なうことを目標とする。
動物モデルから得られた中皮腫検体並びに正常中皮細胞を用いて、全エクソームまたは全ゲノム、及び全転写産物解析を行い、融合遺伝子や遺伝子発現異常、特徴的な遺伝子変異の解析や塩基置換プロファイル等について探索を行なう。候補遺伝子等が明らかになってきたときには、ヒトサンプルで検証し、その生物学的な意義を追究する予定である。更に、多層カーボンナノチューブ投与による悪性中皮腫に関しても同様に解析を行う予定である。

(第3年次評価時点の実績要点)

- 1) 印刷業従事者にみられる胆管がん発症の原因究明
通常型胆管がんについて大規模な遺伝子変異データを元に、変異シグネチャー解析を行った。その結果、C>T at CpG 置換に加えて、C>U RNA 編集酵素である APOBEC 遺伝子によって導入される変異シグネチャーを主要なシグネチャーとして同定した。一方、印刷業従事者を含む若年発症の胆管癌 FFPE 検体の遺伝子変異解析についても行い、通常胆管がんの遺伝子変異データと比較することで、職業性胆管がんの特徴的な遺伝子変異のパターンを見出した。更に、*in vitro*における発がん物質誘導変異プロファイルとの関連から印刷業従事者において多発する胆管がんの原因物質を探索することを達成した。
- 2) 胆管癌原因候補化学物質への曝露状況の把握並びに発がんリスク評価に有用なバイオマーカーの探索
DCM 及び DCP の遺伝毒性発現に対する代謝酵素 (GSTT1) の影響について、*in vitro* の系を用いて検討を行ったところ、GSTT1 は DCM の代謝活性化には寄与するものの、DCP の代謝活性化には寄与しないことが示唆された。一方、DNA 付加体の網羅的解析手法を用いて、DCP に由来する付加体の探索を行ったところ、[M+H: 430.23]の DNA 付加体が DCP 曝露に特徴的なものとしてスクリーニングされた。現在、この付加体の化学構造の同定について検討を行っている。

3) アスベストおよび多層カーボンナノチューブ等のナノマテリアルに由来する中皮腫および肺がん診断マーカーの探索

アスベスト誘発ラット中皮腫モデルにおいて、予後のよい上皮型と予後の悪い肉腫型の検体を使用することにより発現差のある遺伝子の解析を行った。その結果、Connective tissue growth factor (CTGF; CCN2)をその主要な責任遺伝子として選出した。CTGFは中皮腫細胞の悪性度の維持に重要であり、上皮型から肉腫型への形態変化に関与した。また、分泌され、その後自らの LRP6 受容体を介してβカテニンプロモーター複合体を活性化し、その制御下にある CTGF を増産するという autocrine loop を形成することが判明した。さらに、CTGFは血清へも分泌され、その高値は予後と逆相関した。ヒト血清の濃度を検討すると、二相性中皮腫の中に血清 CTGF の高い症例が存在することを確認した。

アスベスト誘発ラット中皮腫モデルの腫瘍サンプルを使用して、次世代シーケンサーを使用して RNA-seq 解析を行い、新奇の融合遺伝子候補を多数得ることができた。さらに、RNA-seq のデータから遺伝子変異解析、遺伝子発現解析を行い、責任遺伝子の候補を追加した。

アスベストおよび多層カーボンナノチューブ(MWCNT)投与により実験動物に誘発した中皮腫および肺がんの全エクソーム解析については現在解析途中である。

(研究終了時点の実績要点)

1) 印刷業従事者にみられる胆管がん発症の原因究明

通常型胆管がんについて大規模な遺伝子変異データを元に、変異シグネチャー解析を行った。その結果、C>T at CpG 置換に加えて、C>U RNA 編集酵素である APOBEC 遺伝子によって導入される変異シグネチャーを主要なシグネチャーとして同定した。

印刷業従事者に発症した肝内胆管癌4例及び対照として通常型肝内胆管癌7例の FFPE 検体の全エクソーム解析を行った。1例あたり 257 から 2,646 ヶ所と通常型胆管癌にくらべきわめて多くの一塩基置換を主とする体細胞変異が同定された。一塩基置換はアンチセンス鎖で有意に増加しており、多量の変異原性物質に曝露された後 transcription-coupled repair 機構が働いたことを示唆する所見であった。全例において一塩基置換パターンが C:G から T:A のトランジションが主であることは通常型胆管癌と異ならなかったが、GpCpPy から GpTpPy および NpCpY to NpTpY or NpApY の特徴的な三塩基置換パターンが印刷工場関連胆管癌全例に認められた。これらの所見は変異原性物質の高濃度曝露が共通して発生していたことを強く示唆するものである。これらの特徴の一部は1, 2-DCP をサルモネラ菌 TA100 株に曝露した実験系でも再現された。

2) 胆管癌原因候補化学物質への曝露状況の把握並びに発がんリスク評価に有用なバイオマーカーの探索

DCM および DCP の代謝活性化に寄与すると考えられている GST-T1 の変異原活性およびスペクトラムへの影響について検討するため、ヒト GST-T1 を強制発現させた *S. typhimurium* TA100 (TA100-GST) を作成した。この菌株を用いて DCM および DCP の変異原性を調べた結果、野生型と比べ DCM では復帰変異コロニー数の上昇が観察されたが、DCP では観察されなかった。このことから、DCP の変異原性発現には GST-T1 は寄与しないことが推測された。さらに、DNA 付加体の網羅的解析手法を用いて、DCP に由来する付加体の探索を行ったところ、[M+H: 430. 23] の DNA 付加体が DCP 曝露に特徴的なものとしてスクリーニングされた。

3) アスベストおよび多層カーボンナノチューブ等のナノマテリアルに由来する中皮腫および肺がん診断マーカーの探索

アスベスト誘発ラット中皮腫モデルにおいて、予後のよい上皮型と予後の悪い肉腫型の検体を使用することにより発現差のある遺伝子の解析を行った。その結果、Connective tissue growth factor (CTGF; CCN2)をその主要な責任遺伝子として選出した。CTGFは血清へも分泌され、その高値は予後と逆相関した。ヒト血清の濃度を検討すると、二相性中皮腫の中に血清 CTGF の高い症例が存在することを確認した。

次世代シーケンサーを使用して RNA-seq 解析を行い、新奇の融合遺伝子候補を多数得ることができた。

研究方法

1. 印刷業従事者にみられる胆管がんの遺伝子変異解析の研究

- 国立病院機構大阪医療センターなどにおいて手術が施された DCM や 1, 2-DCP 等のハロゲン系炭化水素が原因

と考えられる胆管癌 FFPE 検体約 4 症例の癌部、非癌部組織から抽出したゲノム DNA について全エクソン解析を行い、ドライバー変異の相違点や突然変異における塩基置換パターンを抽出し、通常型と比較して特徴的な遺伝子変異や変異パターンの検証を行う。

2. 職業性胆管がん候補原因物質により誘発される遺伝子変異スペクトラムの解析の研究

- *Hprt* 遺伝子を標的とした変異原性試験で、DCM および 1, 2-DCP により誘発される変異スペクトラムを解析する。DCM および 1, 2-DCP の代謝活性化に寄与すると考えられているグルタチオン-S-転移酵素 (GSTT1) の変異原活性およびスペクトラムへの影響についても併せて検討する。
- バクテリアやマウス胎児由来の繊維芽細胞、胆管癌患者由来の培養細胞に DCM および 1, 2-DCP を処理し、高速シーケンサーを用いて、DCM および 1, 2-DCP により誘発される変異パターンを解析する。
- DCM、1, 2-DCP により誘発される特徴的な変異パターンが印刷業従事者の胆管がんの解析結果と相関するか否かについて確認する。
- DCM による塩基置換のプロファイルが印刷業従事者の胆管がんの解析結果と相関した場合は、DCM 由来の既存の DNA 付加体 (GSH-CH2-dG, GSH-CH2-dC, GSH-CH2-dA, GSH-CH2-dT) を含む *supF* 遺伝子を哺乳動物培養細胞に導入し、*supF* 遺伝子に誘発される変異スペクトラムについて解析し、ヒトで得られた知見と比較する。
- DCM および 1, 2-DCP の投与により作成した実験動物の各種腫瘍組織の全エクソーム解析を行い、培養細胞株およびヒトで得られた知見と比較する。

3. 職業性胆管がん患者の候補発がん原因物質への曝露および発がん予測マーカーの探索に関する研究

- ハロゲン系炭化水素は GSTT1 により GSH が付加されることで活性化体となり DNA を修飾し、DNA-アルキル-GSH 付加体を形成すると報告されている。そこで、DCM 由来の DNA 付加体の標準品 (GSH-CH2-dG, GSH-CH2-dC, GSH-CH2-dA, GSH-CH2-dT) を化学合成し、分析条件の確立を LC-ESI-MS/MS を用いて行なう。
- 1,2-DCP 由来の DNA 付加体の標準品についても同様に行う。
- DCM、1,2-DCP 由来の未知付加体の探索をアダクトーム法により行なう。マーカーの候補付加体が検出された場合は、その付加体の構造解析を行うと共に、曝露評価に用いる事の有用性について検討する。
- ハロゲン系炭化水素の解毒や活性化に係る CYP2E1 や GSTT1 の多型が、印刷業従事者個人々の胆管癌発症予測マーカーとなり得ることが考えられる。これら酵素をバクテリア、培養細胞または実験動物に誘導または抑制させ、ハロゲン系炭化水素の遺伝毒性および発がん性に対する影響を調べる。
- 基礎的な研究により見出したハロゲン系炭化水素の曝露マーカーや胆管発がん予測マーカーの妥当性について、実験動物を用いて検証する。
- 妥当性が確認されたハロゲン系炭化水素の曝露マーカーや胆管発がん予測マーカーの有用性を、印刷業従事者の胆管がん手術検体 (非腫瘍部) または末梢血サンプルを用いて検討する。

4. アスベストおよびMWCNT等のナノマテリアルに由来する中皮腫・肺がん診断マーカーの探索に関する研究

- アスベスト投与により実験動物に誘発した中皮腫や肺がんの全エクソーム解析を行う為の解析手法の検討を行なう。確立した手法を用いて、アスベストの特徴的な遺伝子変異の解析や塩基置換プロファイルを探査する。
- 見出された遺伝子変異プロファイルが、診断および発がん予測に有用なバイオマーカーとなり得るか否かを、動物モデルの早期病変やアスベスト曝露歴を持つ患者の組織検体等を用いて検討する。
- 同様の手法で MWCNT 投与により誘発した中皮腫の解析も行い、診断および発がん予測が可能なバイオマーカーの探索を行なう。更に、MWCNT 中皮腫モデルから得られた知見をアスベストの知見と比較し、発がんメカニズムの相違点についても検討する。
- アダクトーム法を用いて、アスベストや MWCNT の慢性的な曝露の状況や程度の指標となるバイオマーカーの探索についても併せて行なう。

研究成果と考察

全期間 (研究終了時)

1) 印刷業従事者にみられる胆管がん発症の原因究明

印刷業関連胆管がんの比較対象として通常型胆道がん 260 例の通常型胆道がんを対象として、全エクソン解

読を行い、得られた体細胞変異（塩基置換）をその前後の配列を含めた96パターンに分類し、Non-negative matrix factorization の手法を用いて、変異シグネチャーを抽出した。その結果、多くのがんで共通して認められる C>T at CpG (COSMIC signature 1) (<http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic/signature>)並びに C->G/C->T 置換優位な APOBEC (apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide-like) 遺伝子によって導入される変異シグネチャー (COSMIC signature 13) が同定された。これらの2つの signature には strand bias が観察されず、特定の DNA 付加体による変異よりは DNA 修復系の異常が原因であると推測された。DNA 修復酵素異常などの要因により高度変異蓄積を伴う症例では COSMIC Signature 1 が優勢であった。一方 COSMIC signature 13 は、肝外胆管がんで優位に認められ、またその貢献度は APOBEC3B 遺伝子の発現量と有意な相関 ($r = 0.268, P = 0.00162$) を認めた。

印刷業従事者に発症した肝内胆管癌4例及び対照として通常型肝内胆管癌7例の FFPE 検体の全エクソン解析を行った。外科切除が行われた症例のうち4例について、手術切除標本から腫瘍部、非腫瘍部のゲノム DNA を回収し、全エクソン解析を行った。1例あたり 257 から 2,646 ヶ所と通常型胆管癌にくらべきわめて多くの一塩基置換を主とする体細胞変異が同定された。一塩基置換はアンチセンス鎖で有意に増加しており、多量の変異原性物質に曝露された後 transcription-coupled repair 機構が働いたことを示唆する所見であった。全例において一塩基置換パターンが C:G から T:A のトランジションが主であることは通常型胆管癌と異ならなかったが、GpCpPy から GpTpPy および NpCpY to NpTpY or NpApY の特徴的な三塩基置換パターンが印刷工場関連胆管癌全例に認められた。これらの所見は変異原性物質の高濃度曝露が共通して発生していたことを強く示唆するものである。これらの特徴の一部は1, 2-DCP をサルモネラ菌 TA100 株に曝露した実験系でも再現された。ただし、これまでモデル実験系では比較的軽度の変異原性しか認められていなかった 1,2-DCP や DCM と発がんの直接の関係を明らかにするには、より臨床例に近い環境で変異原性を評価する実験系での検証が必要である。またこれら化学物質に加え生体内において発がんを制御する機構についてもさらに検討を加える必要があると考えられた。

2) 胆管癌原因候補化学物質への曝露状況の把握並びに発がんリスク評価に有用なバイオマーカーの探索

DCM および DCP の代謝活性化に寄与すると考えられている GST-T1 の変異原活性およびスペクトラムへの影響について検討するため、ヒト GST-T1 を強制発現させた *S. typhimurium* TA100 (TA100-GST) を作成した。この菌株を用いて DCM および DCP の変異原性を調べた結果、野生型と比べ DCM では復帰変異コロニー数の上昇が観察されたが、DCP では観察されなかった。このことから、DCP の変異原性発現には GST-T1 は寄与しないことが推測された。また、DCM で処理した TA100-GST (43 クローン) の全ゲノム解析を行ない、グローバルな変異解析について検討したところ、野生型の変異パターンと比べ C:G to A:T 変異が増加することがわかった。DCM 等のハロゲン系炭化水素は GST T1-1 により GSH が付加されることで活性化体となり DNA を修飾し、DNA-アルキル-GSH 付加体を形成すると報告されている。したがって、DCM で処理した TA100-GST において N²-GSH-Me-dG, もしくは N²-GSH-Me-dC が形成され、C:G to A:T 変異を誘発している可能性が示唆された。

一方、DCP に関しては変異原性発現に GST-T1 が寄与しないことが推測され、その付加体構造に関してはよくわかっていない。そこで、DNA 付加体の網羅的解析手法を用いて、DCP に由来する付加体の探索を行ったところ、[M+H: 430.23] の DNA 付加体が DCP 曝露に特徴的なものとしてスクリーニングされた。

3) アスベストおよび多層カーボンナノチューブ等のナノマテリアルに由来する中皮腫および肺がん診断マーカーの探索に関する研究

ラットを使用して、白石綿・青石綿・茶石綿 (UICC) 投与による悪性中皮腫を収集し、その一部では細胞株を樹立した。商業的に使用されてきたこれらのメジャーな石綿は中皮腫発がん性が高いことを確認した。これまでのアレイ CGH 解析による標的遺伝子 *Cdkn2a/2b* のホモ欠損と病理的解析の結果より、発がんに過剰鉄の強い関与が示唆された。マイナーなアスベストであるトレモライトとアンソフィライトのラット投与実験を施行して、トレモライトの中皮腫発がん性は極めて高いが、アンソフィライトの発がん性は低いことを明らかにした。アンソフィライトは繊維径が比較的太いためこれが発がん性の低い原因と考えられた。

アスベスト誘発ラット中皮腫モデルにおいて、予後のよい上皮型と予後の悪い肉腫型の検体を使用することにより発現差のある遺伝子の解析を行った。その結果、Connective tissue growth factor (CTGF; *CCN2*) をその主要な責任遺伝子として選出した。CTGF は中皮腫細胞の悪性度の維持に重要であり、上皮型から肉腫型への形態変化に関与した。また、分泌され、その後自らの LRP6 受容体を介して β カテニンプロモーター複合体を活性化し、その制御下にある CTGF を増産するという autocrine loop を形成することが判明した。さらに、CTGF は血清へも分泌され、その高値は予後と逆相関した。ヒト血清の濃度を検討すると、二相性中皮腫の中に血清 CTGF の高い症例が存在することを確認した。

アスベスト誘発ラット中皮腫モデルの腫瘍サンプルを使用して、アレイ CGH の結果から原因となるアスベスト繊維の同定を行うプログラムの作成を、遺伝子発現差を根拠として試みた。次世代シーケンサーを使用して RNA-seq 解析を行い、新規の融合遺伝子候補を多数得ることができた。さらに、RNA-seq のデータから遺伝子変異解析、遺伝子発現解析を行い、責任遺伝子の候補を追加した。10 例のうち 1 例に存在した融合遺伝子の FGFR2-TACC fusion に注目して、ラットの悪性中皮腫細胞株ならびに腫瘍とヒト悪性中皮腫の細胞株で解析を行った。ラット 20 サンプルにおいて、3 例においてこの 2 遺伝子の融合を認めたが、キナーゼ部分を含んでいなかった。しかし、この 2 遺伝子が融合しやすいことは注目に値する。ヒト悪性中皮腫の 14 細胞株ではこの融合遺伝子は検出できなかった。ラット悪性中皮腫のアレイ CGH 解析を元に、原因となったアスベストを推定するプログラムの作成を試みた。幹細胞マーカーとして注目される CD44v の探索をヒト悪性中皮腫培養細胞で検討した。ヒト悪性中皮腫の細胞株で CD44v の高発現のものを確認したが、これまでの他の腫瘍における報告とは異なり酸化ストレスが増加しており、さらに検討を要する。また、中皮細胞のアスベスト取り込みには Annexin 2 が重要であることを発見し、好中球に関して多層カーボンナノチューブとアスベストでは反応が異なることを示した。さらに、多層カーボンナノチューブの発がん性には、ヘモグロビンやトランスフェリンの吸着性ならびにその中皮細胞内への取り込みが重要であることを見出した。

倫理面への配慮

遺伝子解析に関してはヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針（平成 16 年、文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第 1 号）に従い、個人情報保護を中心とした人権擁護に十分配慮して研究を行う。手術標本の残余組織の研究利用については、患者及び家族に対して説明し同意を得る。印刷業従事者における検体使用に関しては、各協力医療機関で個別同意を得た上で、連結可能匿名化された検体を当センターにて解析する。組織の採取にあたっては、病理組織学的診断を優先して行い、患者への不利益を生じさせない。患者のプライバシーは遵守する。必要に応じて各研究施設の倫理委員会の承諾を得るものとする。疫学研究については、疫学研究に関する倫理指針（平成 19 年文部科学省・厚生労働省告示第 1 号）を遵守する。又、動物実験は厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針（平成 18 年 6 月 1 日付厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知）及び、各研究者の所属施設の実験動物取り扱い（倫理）規定を遵守して行い、実験に用いる動物に関しても統計学的検定に必要な最小限の個体数を用いることとする。尚、本研究におけるヒト胆管癌遺伝子変異解析は、既に国立がん研究センター倫理審査委員会により承認されている（17-30 主任研究者：柴田龍弘 研究課題：「ゲノム異常解析に基づく、肝がん、膵がん、肺がん、胃がん、大腸がん、胆道がん、乳がん、食道がん、卵巣がん、子宮がん、膀胱がん、頭頸部がん、骨軟部肉腫の発生・進展の分子機構の解明」および 2014-072 主任研究者：戸塚ゆ加里 研究課題：「胆管癌等の職業性発がんの原因解明とバイオマーカーの開発」）。

本研究に関連する、本研究期間中の主な発表論文等

研究開始以前のもので特記すべきもの

(雑誌論文)

1. Fujimoto A, Shibata T, et al. Whole genome sequencing of liver cancers identifies etiological influences on mutation patterns and recurrent mutations in chromatin regulators. *Nature Genet*, 44:760-4, 2012.
2. Kohno T, Shibata T, et al. KIF5B-RET fusions in lung adenocarcinoma. *Nature Med*, 18:375-377, 2012.
3. Wang L, Shibata T, et al. Whole-exome sequencing of human pancreatic cancers and characterization of genomic instability caused by MLH1 haploinsufficiency and complete deficiency. *Genome Res*, 22:208-219, 2012.
4. Kawamoto Y, Tsuchihara K, Yoshino T, Ogasawara N, Kojima M, Takahashi M, Ochiai A, Bando H, Fuse N, Tahara M, Doi T, Esumi H, Komatsu Y, Ohtsu A. KRAS mutations in primary tumours and post-FOLFOX metastatic lesions in cases of colorectal cancer. *Br J Cancer*. 107:340-4, 2012.
5. Bando H, Yoshino T, Yuki S, Shinozaki E, Nishina T, Kadowaki S, Yamazaki K, Kajiura S, Tsuchihara K, Fujii S, Yamanaka T, Ohtsu A. Clinical Outcome of Japanese Metastatic Colorectal Cancer Patients Harbouring the KRAS p.G13D Mutation Treated with Cetuximab + Irinotecan. *Jpn J Clin Oncol*, 42:1146-1151, 2012.

6. Miki Y, Fujitani K, Hirao M, Kurokawa Y, Mano M, Tsujie M, Miyamoto A, Nakamori S, Tsujinaka T. Significance of surgical treatment of liver metastases from gastric cancer. *Anticancer Res.*, 32 : 665-670, 2012.
7. Kubo Y, Takenaka H, Nagai H and Toyokuni S. Distinct affinity of nuclear proteins to the surface of chrysotile and crocidolite. *J Clin Biochem Nutr* 51: 221-226, 2012.
8. Nagai H and Toyokuni S. Differences and similarities between carbon nanotubes and asbestos fibers during mesothelial carcinogenesis. *Cancer Sci* 103: 1378-1390, 2012.
9. Jiang L, Akatsuka S, Nagai H, Chew SH, Ohara H, Okazaki Y, Yamashita Y, Yoshikawa Y, Yasui H, Ikuta K, Sasaki K, Kohgo Y, Hirano S, Shinohara Y, Kohyama N, Takahashi T and Toyokuni S. Iron overload signature in chrysotile-induced malignant mesothelioma. *J Pathol* 228: 366-377, 2012.
10. Akatsuka S, Yamashita Y, Ohara H, Liu YT, Izumiya M, Abe K, Ochiai M, Jiang L, Nagai H, Okazaki Y, Murakami H, Sekido Y, Arai E, Kanai Y, Hino O, Takahashi T, Nakagama H and Toyokuni S. Fenton reaction induced cancer in wild type rats recapitulates genomic alterations observed in human cancer. *PLoS ONE* 7(8), e43403, 2012.

(学会発表)

1. Ishino K, Totsuka Y, Mutoh M, Nakagama H, A comprehensive analysis of metabolic syndrome-related DNA adducts in human leukocytes, 日本癌学会第71回大会. 2012年9月19日
2. Ishino K, Sekine A, Goto S, Nakagama H, Totsuka Y, Analysis of DNA damage induced by nanomaterials using comprehensive analysis of DNA adducts (DNA adductome analysis) 第3回アジア環境変異原学会. 2012年10月24日
3. 土原一哉. 網羅的がんゲノム変異解析の分子標的治療個別化への応用. 日本がん分子標的治療学会第16回学術集会. 2012年6月29日
4. 土原一哉. 網羅的がんゲノム変異解析と個別化医療への応用. 第71回日本癌学会学術総会. 2012年9月21日
5. Toyokuni S. Cancer as a ferrototoxic disease. The 16th Korea-Japan and the 2nd Korea-Taiwan-Japan Joint Conference for Gynecological Pathology (May 26, 2012; Kumamoto, Japan; invited speaker).
6. Nagai H, Okazaki Y, Jiang L, Akatsuka S, Yamashita Y and Toyokuni S. Asbestos surface provides a niche for oxidative modification: a novel role of free radicals in carcinogenesis. Society for Free Radical Research International 16th Biennial Meeting (6-9 September 2012, Imperial College London, UK).
7. Toyokuni S. Oxidation in cancer. Symposium 5: Other iron-related diseases. The 3rd Asia Pacific Iron Academy Conference (Nov 3-4, 2012; Taipei, Taiwan; invited speaker)
8. Toyokuni S. Cancer as a ferrototoxic disease. Free Radical and Metal Biology 2012: Combined meeting of the Society for Free Radical Research Australasia and the Australian Biometals Group (November 28-December 1, 2012; Queensland Institute of Medical Research, Brisbane, Australia; invited speaker)
9. 豊國伸哉 ワークショップ：がん研究における疾患モデル動物とその有用性 アスベスト発がんモデルを用いた発症機構の解明と予防の応用 第101回日本病理学会総会 (平成24年4月26日～28日、東京)
10. 永井裕崇、岡崎泰昌、周 珊瑚、三澤伸明、山下依子、赤塚慎也、石原敏和、山下享子、吉川 豊、安井裕之、蔣 麗、高橋 隆、市原 学、宮田耕充、篠原久典、豊國伸哉 多層カーボンナノチューブの直径と剛性は中皮細胞傷害と中皮腫形成に重要な因子である 第101回日本病理学会総会 (平成24年4月26日～28日、東京)
11. 蔣 麗、山下依子、赤塚慎也、周 珊瑚、永井裕崇、鶴飼 俊、豊國伸哉 Up-regulated CTGF is associated with beta-catenin pathway in asbestos-induced mesothelioma. 第101回日本病理学会総会 (平成24年4月26日～28日、東京)
12. 豊國伸哉 シンポジウム4：ナノマテリアルと労働衛生環境 呼吸器病理学の基礎とナノマテリアル安全性研究 第85回日本産業衛生学会 (平成24年5月31日、名古屋、招待演者)
13. 豊國伸哉 シンポジウム3：金属と酸化ストレスの関係を探る：基礎から臨床研究へ 過剰鉄と活性酸素を介した発がん機構の解明 第65回日本酸化ストレス学会学術集会 (平成24年6月7日～8日、徳島、招待演者)
14. 岡崎泰昌、永井裕崇、胡 茜、赤塚慎也、山下享子、舟橋諭美、山下依子、蔣 麗、大原浩貴、周 珊瑚、高橋 隆、豊國伸哉 鉄化合物誘発ラット腹膜中皮腫において高悪性度の特徴つける mRNA の発現～機能解析への取り組み-2 第65回日本酸化ストレス学会学術集会 (平成24年6月7日～8日、徳島)

15. 豊國伸哉 教育講演2 過剰鉄と発がん JMTO 臨床試験ワークショップ (平成24年6月23日、名古屋、招待演者)
16. 豊國伸哉 鉄代謝と発がん (基礎) 教育セミナー「微量元素の基礎および臨床最新の展開」1. 鉄 第23回日本微量元素学会 (平成24年7月5日~6日、東京、招待演者)
17. 豊國伸哉 アスベスト繊維による発がん機構の解明 第3回「次世代の環境発がんを考える会」公開シンポジウム: 中皮腫の早期診断と新規治療法の開発 (平成24年8月1日、順天堂大学、東京、招待演者)
18. 岡崎泰昌、永井裕崇、胡 茜、赤塚慎也、山下享子、舟橋諭美、山下依子、蔣 麗、大原浩貴、周 珊瑚、高橋 隆、豊國伸哉 鉄化合物誘発ラット腹膜中皮腫において、高悪性度を特徴づけるmicroRNAの発現~機能解析への取り組み 第27回発癌病理研究会 (平成24年8月28日~30日、ラフォーレ修善寺、修善寺)
19. 岡崎泰昌、永井裕崇、胡 茜、赤塚慎也、山下享子、舟橋諭美、山下依子、蔣 麗、大原浩貴、周 珊瑚、高橋 隆、豊國伸哉 鉄化合物誘発ラット腹膜中皮腫において、高悪性度を特徴づけるmicroRNAの発現~機能解析への取り組み 第36回日本鉄バイオサイエンス学会学術集会 (平成24年9月1日~9月2日、札幌)
20. 豊國伸哉、蔣 麗、岡崎泰昌、赤塚慎也、山下依子 シンポジウム1: 鉄代謝の基礎と臨床 過剰鉄と発がん機構の親和性 第36回日本鉄バイオサイエンス学会学術集会 (平成24年9月1日~9月2日、札幌、招待演者)
21. 豊國伸哉 発がん過程における鉄の役割 第71回日本癌学会学術総会 (平成24年9月19日~21日、札幌)
22. 周 珊瑚、岡崎泰昌、永井裕崇、赤塚慎也、山下依子、蔣 麗、高橋 隆、豊國伸哉 脂肪細胞はアディポサイトカインの異常調節でアスベスト曝露に誘導される炎症反応に関与する 第71回日本癌学会学術総会 (平成24年9月19日~21日、札幌)
23. 蔣 麗、赤塚慎也、山下依子、周 珊瑚、豊國伸哉 アスベストによる悪性中皮腫においてはCTGFの増幅と高発現によりbeta-catenin-T-cell factor/Lef 経路が活性化される 第71回日本癌学会学術総会 (平成24年9月19日~21日、札幌)
24. 豊國伸哉 繊維状ナノ粒子による発がん機構の解明 フォーラムIII「化学物質と放射線によるDNA損傷と発がん」フォーラム2012 衛生薬学・環境トキシコロジー (平成24年10月25日~26日、名古屋、招待演者)
25. 豊國伸哉、蔣 麗、周 珊瑚、岡崎泰昌、豊國伸哉 中皮腫発がん機構における過剰鉄の重要性 第3回JMI G研究会 (平成24年11月17日、京都私学会館、京都市)
26. 豊國伸哉、蔣 麗、岡崎泰昌、山下依子、赤塚慎也: 酸化ストレスによるゲノム変化と発がん シンポジウム2: 細胞ストレス応答の破綻と病態 第102回日本病理学会総会 (平成25年6月6日~8日、ロイトン札幌・さっぽろ芸文館、札幌)
27. 山下享子、永井裕崇、豊國伸哉: 中皮細胞によるクロシドライト取り込みの定量的評価 第102回日本病理学会総会 (平成25年6月6日~8日、ロイトン札幌・さっぽろ芸文館、札幌)
28. 蔣 麗、豊國伸哉: Iron overload signature in chrysotile-induced malignant mesothelioma 第66回日本酸化ストレス学会学術集会 (平成25年6月13日~14日、ウインクあいち、名古屋市)
29. 山下享子、永井裕崇、豊國伸哉: 中皮細胞によるクロシドライト取り込みの定量的評価 第66回日本酸化ストレス学会学術集会 (平成25年6月13日~14日、ウインクあいち、名古屋市)
30. 豊國伸哉: ナノ材料 (CNT) の物性と発がん性 シンポジウム4: ナノマテリアルの評価開発手法における今後の課題 第40回日本毒性学会学術年会 (平成25年6月17日~19日、幕張メッセ 国際会議場、招待演者)
31. 豊國伸哉: 多層カーボンナノチューブの発がん性を決定する物性因子の発見 シンポジウムI:「アイデア」 第36回日本がん疫学・分子疫学研究会 (平成25年6月20日~21日、岐阜大学サテライトキャンパス、岐阜市; 招待演者)

(書籍)

1. 土原一哉, 松島洗達, 三牧幸代. 全エクソンリシークエンシング. 菅野純夫, 鈴木穰編. 次世代シーケンサー目的別アドバンスドメソッド. 秀潤社.

第1年次

(雑誌論文)

- ・がん研究開発費による成果であることが記載されているもの

1. Suzuki E, Ikeda M, Okusaka T, Nakamori S, Ohkawa S, Nagakawa T, Boku N, Yanagimoto H, Sato T, Furuse J. A multicenter phase II study of S-1 for gemcitabine-refractory biliary tract cancer. *Cancer Chemother Pharmacol.* 71 (5) 1141 - 1146, 2013.
2. Aierken D, Okazaki Y, Chew SH, Sakai A, Wang Y, Nagai H, Misawa N, Kohyama N and Toyokuni S. Rat model demonstrates a high risk of tremolite but a low risk of anthophyllite for mesothelial carcinogenesis. *Nagoya J Med Sci* 76: 149-160, 2014.

・がん研究開発費による成果としての記載はないが、関連するもの

1. Kato T, Totsuka Y, Ishino K, Matsumoto Y, Tada Y, Nakae D, Goto S, Masuda S, Ogo S, Kawanishi M, Yagi T, Matsuda T, Watanabe M, Wakabayashi K. Genotoxicity of multi-walled carbon nanotubes in both in vitro and in vivo assay systems. *Nanotoxicology*, 7:452-61, 2013.
2. Kawanishi M, Ogo S, Ikemoto M, Totsuka Y, Ishino K, Wakabayashi K, Yagi T. Genotoxicity and reactive oxygen species production induced by magnetite nanoparticles in mammalian cells. *J Toxicol Sci.*, 38:503-511, 2013.
3. Watanabe M, Yoneda M, Morohashi A, Hori Y, Okamoto D, Sato A, Kurioka D, Nittami T, Hirokawa Y, Shiraishi T, Kawai K, Kasai H, Totsuka Y. Effects of Fe₃O₄ Magnetic Nanoparticles on A549 Cells. *Int J Mol Sci.* 14:15546-60, 2013.
4. 宍戸裕二、浅岡忠史、宮本敦史、山本和義、池永雅一、平尾素宏、池田正孝、藤谷和正、関本貢嗣、中森正二 von Recklinghausen 病に合併した十二指腸乳頭部カルチノイドの1切除例 *日本消化器外科学会雑誌* 46:(5) 342-349, 2013.
5. Kubo S, Nakanuma Y, Takemura S, Sakata C, Urata Y, Nozawa A, Nishioka T, Kinoshita M, Hamano G, Terajima H, Tachiyama G, Matsumura Y, Yamada T, Tanaka H, Nakamori S, Arimoto A, Kawada N, Fujikawa M, Fujishima H, Sugawara Y, Tanaka S, Toyokawa H, Kuwae Y, Ohsawa M, Uehara S, Sato KK, Hayashi T, Endo G. : Case series of 17 patients with cholangiocarcinoma among young adult workers of a printing company in Japan. *J Hepatobiliary Pancreat Sci.* 2014 (in press).
6. Toyokuni S: Genotoxicity and carcinogenicity risk of carbon nanotubes. *Adv Drug Deliver Rev* 65: 2098-2110, 2013.
7. Chew SH, Okazaki Y, Nagai H, Misawa N, Akatsuka S, Yamashita K, Jiang L, Noguchi M, Hosoda K, Sekido Y, Takahashi T and Toyokuni S: Cancer-promoting role of adipocytes in asbestos-induced mesothelial carcinogenesis through dysregulated adipocytokine production. *Carcinogenesis* 2013 (in press).
8. Nagai H, Okazaki Y, Chew SH, Misawa N, Miyata Y, Shinohara N and Toyokuni S: Intraperitoneal administration of tangled multiwalled carbon nanotubes of 15 nm in diameter does not induce mesothelial carcinogenesis in rats. *Pathol Int* 63: 457-462, 2013.
9. Nagai H, Okazaki Y, Chew SH, Misawa N, Yasui H and Toyokuni S: Deferasirox induces mesenchymal-epithelial transition in crocidolite-induced mesothelial carcinogenesis in rats. *Cancer Prev. Res* 6: 1222-30, 2013.
10. Toyokuni S: Iron as a major targetable pathogenesis of asbestos-induced mesothelial carcinogenesis. *Redox Rep* 19: 1-7, 2014 .
11. 豊國伸哉、蔣 麗:がんモデルマウス・ラットライブラリ 第7回 中皮腫モデル 細胞工学 第32巻2号、220-224, 2013
12. 豊國伸哉:最新肺癌学:基礎と臨床の最新研究動向 IV肺癌の分子生物学と発癌機序 発癌の分子機序:アスベスト発がんの分子機序 *日本臨床* 71巻増刊号6、150-150, 2013

(学会発表)

1. 戸塚ゆ加里、石野孔祐、中江 大、渡辺昌俊、若林敬二、中釜 斉; マグネタイトナノ粒子は炎症反応を介してマウス肺に遺伝毒性を誘発する、第72回日本癌学会学術総会 (2013年10月 横浜)
2. Totsuka Y, Tada Y, Nakae D, Watanabe M, Wakabayashi K; Magnetite nanoparticles induce genotoxicity in the lung of mice via inflammatory response, *NanOEH* (2013年10月名古屋)
3. Totsuka Y, Tada Y, Nakae D, Watanabe M, Wakabayashi K; Mechanisms of genotoxicity in the lungs by nanomaterials, 11th ICEM (2013年11月ブラジル)
4. 中釜斉、戸塚ゆ加里、三牧幸代、中森正二、鈴木穰、柴田龍弘、落合淳志、土原一哉: 1,2-DCP,DCM 曝露歴のある印刷工胆管癌に認められた高頻度ゲノム変異 第72回日本癌学会学術総会 (2013年10月)

- 横浜)
5. 石野孔輔、戸塚ゆ加里、松島芳隆、鰐淵英機、魏民、山野 莊太郎、中森正二、柴田龍弘、土原一哉、落合淳志、中釜 齊：職業性胆管がんの原因候補物質であるハロゲン系炭化水素由来のDNA付加体及び変異原生の解析 第72回日本癌学会学術総会（2013年10月 横浜）
 6. 後藤 正憲、松島 芳隆、中釜 齊、戸塚 ゆ加里；ジクロロメタン由来のDNA付加体を含むシヤトルプラスミドを用いたヒト細胞内変異原性試験、第42回日本環境変異原学会（2013年11月 岡山）
 7. 馬場 明、後藤純雄、松島芳隆、中釜 齊、戸塚ゆ加里；職業性胆管癌の候補物質、ジクロロメタン及び1,2-ジクロロプロパンの変異原性及び変異スペクトラムの解析、第42回日本環境変異原学会（2013年11月 岡山）
 8. 辻田俊寛、石野孔祐、加藤 護、柴田龍弘、後藤純雄、魏民、松島芳隆、中釜 齊、戸塚ゆ加里；職業性胆管がん発生に関与するハロゲン系炭化水素のDNA付加体の網羅的な解析（アダクトーム解析）、第42回日本環境変異原学会（2013年11月 岡山）
 9. 松本逸平、上坂克彦、福富晃、朴成和、金本秀行、小西大、金岡祐次、清水泰博、中森正二、坂本裕彦：膵癌切除後補助化学療法における塩酸ゲムシタピン療法とS-1療法の第III相比較試験(JASPAC 01) 第68回日本消化器外科学会総会（2013年7月 宮崎）
 10. 田口裕紀子、宮本敦史、浅岡忠史、増田慎三、平尾素宏、高見康二、関本貢嗣、中森正二：腫瘍倍加速度からみた膵癌長期生存例の検討 第72回日本癌学会学術総会（2013年10月 横浜）
 11. 宮本敦史、浅岡忠史、原口直紹、山本和義、三宅正和、西川和宏、宮崎道彦、池田正孝、平尾素宏、関本貢嗣、中森正二：超高齢膵癌症例に対する外科的治療の適応に関する検討 第51回日本癌治療学会学術集会（2013年10月 京都）
 12. Toyokuni S, Jiang L, Okazaki Y and Akatsuka S: Cancer as a ferrotoxic disease: what we have learned from animal studies towards its prevention. IBIS (April 14-18, 2013; University College London, London, UK).
 13. Nagai H, Okazaki Y, Ishihara T, Chew SH, Misawa N, Yasui H and Toyokuni S: Deferasirox promotes mesenchymal-epithelial transition in crocidolite-induced mesothelial carcinogenesis in rats. 6th Joint Meeting of the Societies for Free Radical Research Australasia and Japan (Sep 12-14, 2013; Mercure Sydney, Sydney, Australia; S Toyokuni, invited speaker)
 14. Toyokuni S: Plenary talk 2. Role of iron in carcinogenesis. 6th Biennial Meeting of Society for Free Radical Research Asia (October 16-19, 2013; Chang Gung University, Tao-Yuan, Taiwan; invited speaker)
 15. Toyokuni S, Nagai H, Okazaki Y, Chew SH, Akatsuka S, Jiang L and Ichihara G: Critical factors in multi-walled carbon nanotubes for mesothelial carcinogenesis. 6th International Symposium on Nanotechnology, Occupational and Environmental Health. (October 28-31, 2013; Nagoya Congress Center, Nagoya, Japan)
 16. Nagai H, Okazaki Y, Chew SH, Misawa N, Yasui H and Toyokuni S: Deferasirox induces mesenchymal-epithelial transition in crocidolite-induced mesothelial carcinogenesis in rats. 20th Annual Meeting of SFRBM (November 20-23, 2013; Grand Hyatt Hotel, San Antonio, Texas, USA)
 17. Toyokuni S: Cancer as a ferrotoxic disease. 17th Biennial Meeting of the Society for Free Radical Research International (Invited speaker; March 23-26, 2014; Kyoto International Conference Hall, Kyoto, Japan)
 18. 豊國 伸哉：シンポジウム1：環境物質による発がんリスクとその予防 「アスベスト発がん機構の解明から早期発見・予防への展開」第20回日本がん予防学会（平成25年7月5日～6日、日本薬学会長井記念館、東京都）
 19. 豊國 伸哉：シンポジウム：老化と酸化ストレス、そして、再生へ「酸化ストレスと老化の新たな展開」酸化ストレスと発がんから老化を考える 第28回老化促進モデルマウス（SAM）研究協議会（平成25年7月5日～6日、愛知学院大学、名古屋市、招待演者）
 20. 豊國伸哉、永井裕崇、岡崎泰昌、周 珊瑚、赤塚慎也：ラットのアスベスト誘発中皮腫発がんモデルにおいてDeferasirox投与は間葉上皮移行を促進する 第28回発癌病理研究会（平成25年8月26日～28日、ユインチホテル南城、沖縄）
 21. 永井裕崇、岡崎泰昌、周 珊瑚、三澤伸明、安井裕之、豊國伸哉：ラットアスベスト誘発中皮腫発がんモデルにおいてDeferasirox投与は間葉上皮移行を促進する 第4回JMIG研究会（平成25年8月31日、京都）
 22. 豊國伸哉、永井裕崇、岡崎泰昌、周 珊瑚、三澤伸明、安井裕之：ラットのアスベスト誘発中皮腫発がんモデルにおいてDeferasirox投与は間質上皮移行を促進する 第37回日本鉄バイオサイエンス学会学術集会

(平成25年9月7日～8日、東京)

23. 豊國伸哉：シンポジウム：がん研究とモデル動物（モデレーター、座長）モデル動物から明らかになった過剰鉄と発がんの親和性 第72回日本学会学術総会（平成25年10月3日～5日、パシフィコ横浜、横浜市）
24. 豊國伸哉：シンポジウム1 細胞ストレス応答の分子機構と疾患病態：酸化ストレスによる発がん機構の解明 第8回臨床ストレス応答学会（平成25年11月15日～16日、信州大学、松本市）

第2年次

（雑誌論文）

・がん研究開発費による成果であることが記載されているもの

1. Totsuka Y, Watanabe T, Coulibaly S, Kobayashi S, Nishizaki M, Okazaki M, Hasei T, Wakabayashi K, Nakagama H. In vivo genotoxicity of a novel heterocyclic amine, aminobenzoazepinoquinolinone-derivative (ABAQ), produced by the Maillard reaction between glucose and l-tryptophan. *Mutat Res.*, 760:48-55, 2014.
2. Mukaide T, Hatori Y, Misawa N, Funahashi S, Jiang L, Hirayama T, Nagasawa H and Toyokuni S. Histological detection of catalytic ferrous iron with the selective turn-on fluorescent probe RhoNox-1 in a Fenton reaction-based rat renal carcinogenesis model. *Free Radic Res.*, 48: 990-995, 2014.
3. Jiang L, Yamashita Y, Chew SH, Akatsuka S, Ukai S, Wang S, Nagai H, Okazaki Y, Takahashi T and Toyokuni S. Connective tissue growth factor and α catenin constitute an autocrine loop for activation in rat sarcomatoid mesothelioma. *J Pathol* 233: 402-414, 2014.
4. Toyokuni S. Iron and thiols as two major players in carcinogenesis: friends or foes? *Front Pharmacol* 5:200, 2014.
5. Toyokuni S, Jiang L, Kitaura R and Shinohara S. Minimal inflammogenicity of pristine single-wall carbon nanotubes. *Nagoya J Med Sci.*, 77: 195-202, 2014.

・がん研究開発費による成果としての記載はないが、関連するもの

1. Kubo S, Nakanuma Y, Takemura S, Sakata C, Urata Y, Nozawa A, Nishioka T, Kinoshita M, Hamano G, Terajima H, Tachiyama G, Matsumura Y, Yamada T, Tanaka H, Nakamori S, Arimoto A, Kawada N, Fujikawa M, Fujishima H, Sugawara Y, Tanaka S, Toyokawa H, Kuwae Y, Ohsawa M, Uehara S, Sato KK, Hayashi T, Endo G. Case series of 17 patients with cholangiocarcinoma among young adult workers of a printing company in Japan. *J Hepatobiliary Pancreat Sci.* 21(7):479-488, 2014.
2. Toyoda M, Ajiki T, Fujiwara Y, Nagano H, Kobayashi S, Sakai D, Hatano E, Kanai M, Nakamori S, Miyamoto A, Tsuji A, Kaihara S, Ikoma H, Takemura S, Toyokawa H, Terajima H, Morita S, Ioka T. Phase I study of adjuvant chemotherapy with gemcitabine plus cisplatin in patients with biliary tract cancer undergoing curative resection without major hepatectomy (KHB01004). *Cancer Chemother Pharmacol.* 73(6):1295-1301, 2014.
3. Arai Y, Tototki Y, Hosoda F, Shiota T, Hama N, Nakamura H, Ojima H, Furuta K, Shimada K, Okusaka T, Kosuge T, Shibata T. FGFR2 tyrosine kinase fusions define a unique molecular subtype of cholangiocarcinoma. *Hepatology*, 59(4):1427-34, 2014.
4. 浅岡忠史、宮本敦史、中森正二 手術以外の治療編；胆管狭窄・閉塞に対する治療 *消化器外科NURSING* 19 (5):486-487, 2014.

・その他 間接的ではあるが関連している論文

1. Takeda Y, Nakamori S, Eguchi H, Kobayashi S, Marubashi S, Tanemura M, Konishi K, Yoshioka Y, Umeshita K, Mori M, Doki Y, Nagano H. Neoadjuvant Gemcitabine-based Accelerated Hyperfractionation Chemoradiotherapy for Patients with Borderline Resectable Pancreatic Adenocarcinoma. *Jpn J Clin Oncol.* 44(12):1172-1180, 2014.
2. Okusaka T, Ojima H, Morizane C, Ikeda M, Shibata T. Emerging drugs for biliary cancer. *Expert Opin Emerg Drugs.* 19(1):11-24, 2014

(学会発表)

1. 戸塚ゆ加里、中釜 斉、質量分析機器を用いた DNA 付加体の網羅的解析により発がんに関わる DNA 付加体を探索する Exploration of DNA adducts contributing to cancer development using comprehensive DNA adduct analysis (DNA adductome analysis), 41 回毒性病理大会. 2014 年 7 月
2. 後藤正憲、戸塚ゆ加里、土原一哉、三牧幸代、尾島英知、柴田龍弘、落合淳志、中釜斉 Analyses of genotoxicity induced by dichloromethane and 1,2-dichloropropane, being responsible for occupational bile duct cancer, 日本癌学会第 73 回大会. 2014 年 9 月
3. 椎崎 一宏、後藤 正憲、荒井 康仁、濱 奈津子、柴田 龍弘、中釜 斉、戸塚 ゆ加里, Identification of the location of DNA adducts within the genome, 日本癌学会第 73 回大会, 2014 年 9 月
4. 三牧 幸代、戸塚 ゆ加里、鈴木 穰、中井 智嘉子、柴田 龍弘、江角 浩安、落合 淳志、中釜 斉、久保 正二、中森 正二、土原 一哉 Mutation profile of occupational cholangiocarcinoma (CCA) in Japan. 日本癌学会第73回大会, 2014年9月, 横浜市
5. Hitoshi Nakagama, Sachiyo Mimaki, Yukari Totsuka, Yutaka Suzuki, Chikako Nakai, Tatsuhiro Shibata, Hiroyasu Esumi, Atsushi Ochiai, Shigekazu Takemura, Chikaharu Sakata, Shoji Kubo, Shoji Nakamori, Katsuya Tsuchihara. Hypermethylation in cholangiocarcinoma of offset color proof-printing workers. 4th Asian Conference of Environmental Mutagens. December 11, 2014. Kolkata, India.
6. Morizane C, Okusaka T, Mizusawa J, Katayama H, Ueno M, Ikeda M, Ishii H, Azuma T, Iguchi H, Nakamori S, Mizuno N, Sata N, Sugimori K, Yamaguchi K, Mine T, Sano K, Maguchi H, Shimizu K, Furuse J. Randomized phase III study of gemcitabine plus S-1 combination therapy versus gemcitabine plus cisplatin combination therapy in advanced biliary tract cancer. (A Japan Clinical Oncology Group study JCOG1113) 50th ASCO 2014, 2014 年 5 月
7. 宮本敦史、浅岡忠史、原口直紹、山本和義、三宅正和、西川和宏、池田正孝、平尾素宏、関本貢嗣、中森正二 胆道再建を伴う肝切除における早期経腸栄養の忍容性と効果 第 69 回 日本消化器外科学会総会 2014 年 7 月
8. 三牧幸代、戸塚ゆ加里、鈴木穰、中井智嘉子、柴田龍弘、江角浩安、落合淳志、中釜斉、久保正二、中森正二 印刷工胆管癌の全エクソンシーケンス解析 第 73 回 日本癌学会学術総会 2014 年 9 月
9. 宮本敦史、浅岡忠史、原口直紹、山本和義、三宅正和、西川和宏、宮崎道彦、池田正孝、平尾素宏、関本貢嗣、中森正二 胆道癌切除後の再発病巣切除に関する検討 第 50 回 日本胆道学会学術集会 2014 年 9 月
10. 杉本彩、中水流正一、岩崎哲也、岩崎竜一朗、西尾公美子、長谷川裕子、榊原裕子、山田拓哉、石田永、浅岡忠史、宮本敦史、中森正二、三田英治 肝内胆管癌と肝細胞癌の異時性重複癌症例の検討 第 50 回 日本胆道学会学術集会 2014 年 9 月
11. 浅岡忠史、宮本敦史、中森正二 胆嚢癌に対する腹腔鏡下胆嚢摘出術 第 50 回 日本胆道学会学術集会 2014 年 9 月
12. 宮本敦史、浅岡忠史、前田栄、原口直紹、山本和義、三宅正和、西川和宏、宮崎道彦、池田正孝、平尾素宏、関本貢嗣、中森正二 術前胆道ドレナージが膵頭十二指腸切除後の経過に及ぼす影響に関する検討 第 27 回 日本外科感染症学会総会学術集会 2014 年 12 月
13. Toyokuni S. Critical factors in multi-walled carbon nanotubes in mesothelial carcinogenesis. The 46th Fullerenes-Nanotubes-Graphene General Symposium. (The University of Tokyo, Ito International Research Center, March 3-5, 2014; invited special lecture)
14. Toyokuni S. Cancer as a ferrototoxic disease. Symposium 1: Redox-active ion in disease pathology and treatment. 17th Biennial Meeting of the Society for Free Radical Research International (March 23-26, 2014; Kyoto International Conference Center, Kyoto, Japan; invited speaker).
15. 豊國伸哉 発がん要因としての酸化ストレス シンポジウム 1: 腫瘍病理学の真髄 第 103 回日本病理学会総会 (平成 26 年 4 月 24 日~26 日、広島国際会議場、広島市)
16. 豊國伸哉 アスベスト発がん過剰鉄: 動物発がんから発症予防へ 2 学会合同シンポジウム (第 87 回日本産業衛生学会・第 84 回日本衛生学会) アスベスト問題: 予防・診断・治療を科学する (平成 26 年 5 月 21 日~27 日、岡山コンベンションセンター、岡山市; 招待演者)
17. ディルノル・アルキン、岡崎泰昌、周 珊瑚、王 越、三澤伸明、豊國伸哉 トレモライトの中皮腫発がん性は高いがアンソフィライトの中皮腫発がん性は低い 第 21 回日本がん予防学会総会 (平成 26 年 6 月 13 日~14 日、国立がんセンター研究所築地キャンパス、東京都)
18. Jiang L and Toyokuni S. シンポジウム: CCN ファミリー研究のフロンティア Connective tissue growth factor and beta-catenin constitute an autocrine loop for activation in rat sarcomatoid mesothelioma.

- 第6回日本CCNファミリー研究会（平成26年8月30日、岡山大学、岡山市、招待演者）
19. 豊國伸哉、蔣麗、岡崎泰昌、赤塚慎也 シンポジウム1「鉄と腫瘍」 過剰鉄による発がん機構の解明からその予防へ 第38回日本鉄バイオサイエンス学会学術集会（平成26年9月6日～7日、仙台国際センター、仙台市、招待演者）
 20. 豊國伸哉 シンポジウム：ゲノム制御から見た環境発がん：中皮腫発癌機構解明とその予防への挑戦 第73回日本癌学会学術総会（平成26年9月25日～27日、パシフィコ横浜、横浜市）
 21. 豊國伸哉 酸素と鉄の親和性：鉄過剰と発がん「レドックスシンポジウム：酸素生物学の誕生」平成26年10月11日（名古屋大学ES総合館 ESホール、招待演者）
 22. 豊國伸哉 アスベストによる中皮腫発がん機構の解明からナノマテリアルのリスク評価へ シンポジウム1：環境発がんのリスク評価における病理学の貢献 第60回日本病理学会秋期特別総会（平成26年11月20日～21日、国立劇場おきなわ、沖縄県浦添市）

（書籍）

1. 豊國伸哉（編集） 職業・環境発がん：メカニズムと病理 繊維性ナノマテリアルの発がん機構 文光堂 第32巻 6号 2014

第3年次

（雑誌論文）

- ・がん研究開発費による成果であることが記載されているもの
 1. Toyokuni S, Jiang L, Kitaura R and Shinohara S. Minimal inflammogenicity of pristine single-wall carbon nanotubes. *Nagoya J Med Sci.* 77: 195-202, 2015.
 2. Yamashita K, Nagai H and Toyokuni S. Receptor role of annexin A2 in the mesothelial endocytosis of crocidolite fibers. *Lab Invest* 95: 749-764, 2015.
 3. Chew SH and Toyokuni S. Malignant mesothelioma as an oxidative stress-induced cancer: An update. *Free Radic Biol Med* 86: 166-178, 2015.
 4. Toyokuni S. Oxidative stress as an iceberg in carcinogenesis and cancer biology. *Arch Biochem Biophys* 595: 46-49 2016.
 5. Wang Y, Okazaki Y, Shi L, Kohda H, Tanaka M, Taki K, Nishioka T, Hirayama T, Nagasawa H, Yamashita Y, Toyokuni S. Role of hemoglobin and transferrin in multi-wall carbon nanotube-induced mesothelial injury and carcinogenesis. *Cancer Sci.* 2016 Mar;107(3):250-7. doi: 10.1111/cas.12865.
 6. Toyokuni S. The origin and future of oxidative stress pathology: From the recognition of carcinogenesis as an iron addiction with ferroptosis-resistance to non-thermal plasma therapy. *Pathol Int* 2016 doi: 10.1111/pin.12396.
 7. Jiang L, Chew SH, Nakamura K, Ohara Y, Akatsuka S and Toyokuni S. Dual preventive benefits of iron elimination by desferal in asbestos-induced mesothelial carcinogenesis. *Cancer Sci.* 2016 doi: 10.1111/cas.12947.
 8. Mimaki S, Totsuka Y, Shibata T, Tsuchihara K et al. Hypermutation and unique mutational signatures of occupational cholangiocarcinoma in printing workers exposed to haloalkanes. *Carcinogenesis* (in press).
- ・がん研究開発費による成果としての記載はないが、関連するもの
 1. Nakamura H, Arai Y, Totoki Y, Shirota T, Elzawahry A, Kato M, Hama N, Hosoda F, Urushidate T, Ohashi S, Hiraoka N, Ojima H, Shimada K, Okusaka T, Kosuge T, Miyagawa S, Shibata T; Genomic spectra of biliary tract cancer. *Nat Genet.* 2015 Sep; 47(9): 1003-10.
 2. Funahashi F, Okazaki Y, Ito D, Asakawa A, Nagai H, Tajima M and Toyokuni S. Asbestos and multi-walled carbon nanotubes generate distinct oxidative responses in inflammatory cells. *J Clin Biochem Nutr* 56: 111-117, 2015.
 3. Ishino K, Kato T, Kato M, Shibata T, Watanabe M, Wakabayashi K, Nakagama H, Totsuka Y. Comprehensive DNA adduct analysis reveals pulmonary inflammatory response contributes to genotoxic action of magnetite nanoparticles. *Int. J Mol. Sci.* 2015, Feb 4; 16(2): 3474-92.

・その他 間接的ではあるが関連している論文

1. Mori M, Ito F, Shi L, Wang Y, Ishida C, Hattori Y, Niwa M, Hirayama T, Nagasawa H, Iwase A, Kikkawa F, Toyokuni S. Ovarian endometriosis-associated stromal cells reveal persistently high affinity for iron. *Redox Biol.* 2015 Oct 21; 6:578-586. doi: 10.1016/j.redox.2015.10.001.

(学会発表)

1. 戸塚ゆ加里、中釜 斉：質量分析機器を用いた DNA 付加体の網羅的解析による中国の食道癌発症要因の解明 第 42 回日本毒性学会学術大会. 2015 年 7 月
2. Yukari Totsuka, Yingsong Lin, Mamoru Kato, Yasushi Totoki, Tatsuhiro Shibata, Yoshitaka Matsushima, Hitoshi Nakagama : Exploration of cancer etiology using comprehensive DNA adduct analysis (DNA adductome analysis) 日本癌学会学術総会. 2015 年 10 月
3. 戸塚ゆ加里: ゲノム解析および DNA 付加体の網羅的解析による発がん要因の探索, 第 44 回日本環境変異原学会. 2015 年 12 月
4. 秋場 望、椎崎一宏、遠藤 治、三牧幸代、土原一哉、中釜 斉、戸塚ゆ加里 : 職業性胆管癌の候補物質、ジクロロメタン及び 1,2-ジクロロプロパンの変異原性に対するグルタチオン-S-転移酵素の影響、第 44 回日本環境変異原学会. 2015 年 12 月
5. 土原一哉 : 網羅的ゲノム解析よりあきらかになった印刷工場関連胆管癌遺伝子変異の特徴、フォーラム 2015 衛生薬学・環境トキシコロジー (2015 年 9 月 神戸)
6. 三牧幸代、戸塚ゆ加里、落合淳志、久保正二、中森正二、中釜斉、江角浩安、土原一哉 : 印刷業従業者胆管癌のゲノム変異より明らかとなった変異原物質の特徴、第 74 回日本癌学会学術集会 (2015 年 10 月 名古屋)
7. Toyokuni S. Cancer as a ferrotoxic disease: what we have learned from animal experiments toward its prevention. Bosch Institute Annual Scientific and Young Investigator's Meeting. Canceromics: From Molecular and Cellular Biology to Breakthrough Therapeutics (University of Sydney, July 16-17, 2015; Sydney, Australia; invited, plenary speaker)
8. Toyokuni S, Mukaide T, Hattori Y, Ito F, Mori M, Ohara Y, Hirayama T, Nagasawa H. Novel fluorescent probe detecting catalytic ferrous iron. 6th meeting of the International BioIron Society (Zhejiang University, Hangzhou, China; September 6-10, 2015)
9. Toyokuni S, Shi L, Wang Y, Okazaki Y. Direct exposure of non-thermla plasma confers simultaneous oxidative and ultraviolet odifications in biomolecules: application to cancer therapy. The 10th Asian-European International Conference on Plasma Surface Engineering (AEPSE 2015) (September 20-24, 2015; Jeju, Korea; invited speaker).
10. 豊國伸哉 宿題報告 3 : 酸化ストレス病理学の確立とその疾患予防への展望 第 104 回日本病理学会総会 (2015 年 4 月 30 日~5 月 2 日、名古屋国際会議場、名古屋市熱田区)
11. 赤塚慎也、李 光華、川口真一、豊國伸哉 鉄ニトリロ三酢酸誘発腎発癌モデルにおける酸化的 DNA 損傷のゲノム内分布 第 104 回日本病理学会総会 (2015 年 4 月 30 日~5 月 2 日、名古屋国際会議場、名古屋市熱田区)
12. 李 光華、赤塚慎也、西山誉大、中別府雄作、豊國伸哉 Mutyh 欠損マウスにおける鉄ニトリロ三酢酸誘発腎がんの解析 第 104 回日本病理学会総会 (2015 年 4 月 30 日~5 月 2 日、名古屋国際会議場、名古屋市熱田区)
13. 神田 容、王 越、豊國伸哉 タンパク質を吸着することはカーボンナノチューブの中皮細胞毒性を増強させる 第 104 回日本病理学会総会 (2015 年 4 月 30 日~5 月 2 日、名古屋国際会議場、名古屋市熱田区)
14. 赤塚慎也、李 光華、川口真一、豊國伸哉 マウス腎発がん初期過程における酸化的 DNA 損傷のゲノム内分布 第 22 回日本癌予防学会総会 (平成 27 年 6 月 5 日~6 日、ラフレさいたま、埼玉県さいたま市)
15. 蔣 麗、周 珊瑚、大原悠紀、王 申奇、赤塚慎也、岡崎泰昌、豊國伸哉 結合組織成長因子はラット肉腫型中皮腫において β カテニンと活性化オートクラインループを形成する 第 22 回日本癌予防学会総会 (平成 27 年 6 月 5 日~6 日、ラフレさいたま、埼玉県さいたま市)
16. 岡崎泰昌、周 珊瑚、酒井晃太、Dilnur Aierken、王 越、永井裕崇、三澤伸明、神山宣彦、豊國伸哉 中皮細胞傷害と発がん性はトレモライトに強く、アンソフィライトに弱い 第 68 回日本酸化ストレス学会学術集会 (平成 27 年 6 月 11 日~12 日、かごしま県民交流センター、鹿児島県鹿児島市)
17. 豊國伸哉 特別講演 1 : 酸化ストレス病理学の確立とその疾患予防への展望 第 68 回日本酸化ストレス学会学術集会 (平成 27 年 6 月 11 日~12 日、かごしま県民交流センター、鹿児島県鹿児島市)
18. 豊國伸哉 アスベストによる中皮腫発生機構 増加する悪性中皮腫のスキルアップを目指して-中皮腫細胞

- の機能と形態から診断のカギを探る- 第56回日本臨床細胞学会総会(春季大会)(平成27年6月12日～14日、くにびきメッセ/松江テルサ、島根県松江市、招待演者)
19. 豊國伸哉 アスベストによる中皮腫発がん機構の解明とナノマテリアルのリスク評価 シンポジウム4: ナノマテリアルの毒性評価のシンポ 第42回日本毒性学会学術集会(平成27年6月29日～7月1日、石川県立音楽堂、ホテル日航金沢、石川県金沢市、招待演者)
 20. 李 光華、赤塚慎也、二口 充、中別府雄作、豊國伸哉 Mutyh 欠損マウスにおける鉄ニトリロ三酢酸誘発腎発がんの解析 第30回発癌病理研究会 平成27年8月26日～28日(香川県木田郡三田町 リゾートホテル オリビアン小豆島)
 21. 岡崎泰昌、周 珊瑚、酒井晃太、Dilnur Arken、王 越、永井裕崇、三澤伸明、神山宣彦、豊國伸哉 中皮細胞傷害性と発がん性はトレモライトに強く、アンソフィライトに弱い第39回日本鉄バイオサイエンス学会学術集会(平成27年8月29日～30日、岡山コンベンションセンター、岡山県岡山市)
 22. 赤塚慎也、李 光華、川口真一、豊國伸哉 シンポジウム1: 鉄動態と細胞機能 鉄を介した酸化ストレスによるゲノム変化と発がん 第39回日本鉄バイオサイエンス学会学術集会(平成27年8月29日～30日、岡山コンベンションセンター、岡山県岡山市)
 23. 赤塚慎也、李 光華、豊國伸哉 鉄を介した酸化ストレスによりゲノム変化と発癌 International Symposium 4: Cancer prevention and therapy targeting iron and oxidative stress. 第74回日本癌学会学術総会(平成27年10月8日～10日名古屋国際会議場、愛知県名古屋市)
 24. 王 越、岡崎泰昌、石 蕾、神田 容、豊國伸哉 中皮細胞の傷害及び発がんにおいてカーボンナノチューブの表面性質によるタンパク質吸着は重要因子である 第74回日本癌学会学術総会(平成27年10月8日～10日、名古屋国際会議場、愛知県名古屋市)
 25. 岡崎泰昌、周 珊瑚、酒井晃太、Alkin Dilnur、王 越、永井裕崇、三澤伸明、神山宣彦、豊國伸哉 中皮細胞傷害と発がん性はトレモライトに強く、アンソフィライトに弱い 第74回日本癌学会学術総会(平成27年10月8日～10日、名古屋国際会議場、愛知県名古屋市)
 26. 山下享子、永井裕崇、豊國伸哉 アネキシンA2は中皮細胞によるアスベスト取り込みにおいて受容体として働く 第74回日本癌学会学術総会(平成27年10月8日～10日、名古屋国際会議場、愛知県名古屋市)
 27. 豊國伸哉 教育講演9: アスベスト繊維による中皮腫発生機構 第54回日本臨床細胞学会秋季大会(平成27年11月21日～22日、名古屋国際会議場、愛知県名古屋市)
 28. Toyokuni S. Cancer as ferrototoxic disease: What we have learned from animal experiments toward its prevention. SFRR-Asia 2015: Advanced oxidative stress research for health benefits and well-beings (Nov 29 – Dec 2, 2015; The Empress Hotel, Chiang Mai, Thailand; invited speaker)
 29. Toyokuni S. Mukaide T, Hattori Y, Ito F, Mori M, Ohara Y, Hirayama T, Nagasawa H. Novel fluorescent probe detecting catalytic ferrous iron. 7th Joint Meeting of the Society for Free Radical Research Australasia and Japan (Dec 7-10, 2015; University of Otago, Christchurch, New Zealand; invited speaker)
 30. Toyokuni S. Iron as a ferrototoxic disease: what we have learned from animal experiments toward cancer prevention. International Conference on 20th Annual Meeting of Korean Society of Cancer Prevention (Dec 10-11, 2015; The Korea Chamber of Commerce and Industry, Seoul, Korea; invited speaker)
 31. Toyokuni S. Role of iron in carcinogenesis. 14th Annual Meeting of the Society for Free Radical Research-India (SFRR-India) and International Conference on Translational Research Ionizing Radiation, Free Radicals, Antidants & Functional Food (Jan 7-9, 2016; West Bengal University of Health Sciences, Kalyani, Nadia, West Bengal, India; invited speaker)