日衛誌（Jpn. J. Hyg.），59，311-316（2004）

白血球DNA付加体を指標とした環境発がんのリスク評価*

市　場　正　良

佐賀大学医学部社会医学講座

Risk Assessment of Environmental Carcinogenesis using WBC DNA Adducts

Masayoshi ICHIBA

Saga Medical School, Department of Social and Environmental Medicine, Saga

Abstract　Environmental carcinogens are enzymatically activated to form intermediates that can react with cellular DNA and form DNA adducts. Several kind of carcinogens bind to several sites of DNA. The measurement of WBC DNA adducts is a useful indicator for environmental carcinogen exposure monitoring. The ^{32}P-Postlabeling method is a most popular and very sensitive method for DNA adduct analysis. We can analyze 1 adduct / 10^8 nucleotides. In this review, I show some data of DNA adduct analysis for PAH exposure. These results demonstrated that inter-individual variation was very large. There were some confounding factors, such as metabolism or repair variations. I also showed some limitations of DNA adduct analysis. The method of adduct analysis is very complicated with several steps. We need to improve the accuracy. Do the data from WBC explain the target organ, such as the lung or liver? Almost all previous studies have been cross-sectional. We need a large-sized cohort study to evaluate whether adducts are a predictor of cancer. DNA adducts should be an important factor in gene - environment interaction.

Key words: DNA adduct（DNA付加体），WBC（白血球），biomarker（バイオマーカー），PAH（多環芳香族炭化水素）

1. はじめに

人は日常生活において様々な発がん物質に曝露されている。有機物の燃焼により，発生する多環芳香族炭化水素（PAH）はその代表的な物質と言える。曝露されたPAHは体内でCYP等の第1相酵素により代謝活性化され中間代謝物に変わり，さらに第2相酵素による抱合反応を受けて体外へ排泄される。しかしながら，中間代謝物のあるものはDNAの塩基と共有結合してしまう。これをDNA付加体と呼ぶ（図1）。様々な発がん物質の中間代謝物がDNA塩基の各部位に結合し付加体を形成することが知られている。これらのDNA付加体が存在することにより，DNAの立体構造が変化したり，DNA複製時の読み間違え等からDNAに変異がおこる。付加体の結合部位が癌遺伝子や癌抑制遺伝子ならば，その変異は将来のがん化に結びつくと考えられる。したがって，DNA付加体は，発がん物質曝露の早期影響を定量的に評価する指標として予防医学上重要であると考えられる。

しかし，がんが発生してからの摘出臓器のDNA付加体を分析しても，予防医学上の利点はない。そこで，発病前の人から得られる末梢血液中の白血球DNA付加体を分析する意義が検討されている。この総説では，白血球DNA付加体の測定法と筆者らの測定事例を紹介し，予防医学における意義と今後の課題についてまとめた。

2. DNA付加体測定法

白血球DNA付加体の測定法としては，1）薄層クロマトグラフィーを利用した^{32}Pポストラベル法，2）付加体ヌクレオチドの抗体を利用したELISA法，3）付加体の化学的性質を利用し蛍光や電気化学検出器で分析する方法がある。ここでは，最も広く使われ感度も高い^{32}Pポ

受付2003年12月1日，受理2004年1月6日

* 第73回日本衛生学会総会（2003年，大分）において授賞した奨励賞に関わる研究をとりまとめた。

Reprint requests to: Masayoshi ICHIBA
Saga Medical School, Department of Social and Environmental Medicine, Nabeshima, Saga, 849-8501, Japan
TEL: 0952-34-2289, FAX: 0952-34-2065
E-mail: ichiba@post.saga-med.ac.jp

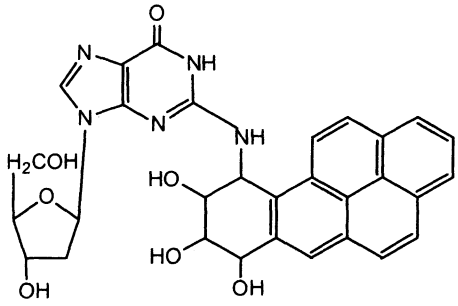

図1　DNA付加体の例　Benzo(a)pyrene代謝物とGuanosineとの結合を示す.

ストラベル法を中心として述べる。

^{32}P ポストラベル法の基本的な原理はDNAをその構成成分であるヌクレオチドにまで分解し，正常ヌクレオチドと付加体ヌクレオチドを分離定量することである。微量の付加体ヌクレオチドを検出するために放射性の^{32}Pで全てのヌクレオチドをラベルし，^{32}Pをマーカーとして薄層クロマトグラフィーを行う。付加体の構造は不明であるが，正常ではないヌクレオチドを定量することを基本としている。この方法には，付加体の構造は決定できないという欠点はあるものの，人への発がん物質の曝露を考えた場合，曝露される物質は単一の物質ではなく様々な混合物であることから，人での曝露を総合的に評価できるという利点がある。また測定にあたり標準品が必要ないという特徴にもなる。

1981年にRanderathら（1）により基本的な測定法が発表されたが，まだ感度が低く人の細胞での測定は出来なかった。しかし，感度よく測定するための改良法として，ブタノール抽出法が1985年（2）に，ヌクレアーゼP1法が1986年（3）に発表され，人での測定が可能となった。これらは，測定感度を上げるため，^{32}Pでラベルする前に，多量の正常ヌクレオチドとごく微量の付加体ヌクレオチドから，付加体ヌクレオチドのみをブタノールで抽出したり，ヌクレアーゼP1で正常ヌクレオチドを分解する過程を経て，付加体ヌクレオチドのみをラベルすることにより感度を上げることができる。PAH等の付加体ヌクレオチドの多くはヌクレアーゼP1に抵抗性であることが分かっている。ヌクレアーゼP1法の方が簡便なため，こちらがより多く使用されている。ただし，ヌクレアーゼP1で分解される付加体ヌクレオチドもある。例えば，ベンチジンやアミノビフェニルなどの芳香族アミンは，ブタノール抽出法を使うと良い。

^{32}Pでラベルされたヌクレオチドは，2次元の薄層クロマトグラフィーにて残留正常ヌクレオチドと付加体ヌクレオチドに分離した後，オートラジオグラフィーにて定量する。動物実験などでの高濃度の付加体は，明瞭なスポットとして認められるが，人のサンプルでは，クロマトの原点から右斜め対角線上の濃い領域（Diagonal Radioactive zone, DRZ）に多種類の付加体ヌクレオチドが含まれていると考えられている。付加体濃度は，一般的に10^8ヌクレオチド当たり何個と表示する。

使用するDNAは，全白血球を使う場合と分離したリンパ球を使う場合がある。白血球は，寿命の長いリンパ球（約数年）と短い顆粒球（約1日）からなるので，リンパ球の結果が，長い曝露を反映すると考えられる（4）。全白血球は，寿命の長いリンパ球と短い顆粒球との混合した結果となる。付加体の濃度レベルも，リンパ球では全白血球よりやや高めの値が報告されていることが多い。^{32}P-ポストラベル法に関しては，詳しい総説がある（5）。

3. 測定事例

これまでの人を対象とした白血球DNA付加体の測定事例は，職業性PAH曝露集団を対象とした調査と健常者での喫煙量との関係を見たものやがん患者の症例対象研究に大きく分けられる。

職業性PAH曝露集団に関しては，1988年ころから調査が行われている。対象集団は，鋳物，コークス炉，アルミニウム工場作業者が多い。その他，自動車エンジンの排気ガス曝露を考えた運転手や整備士または交通警官の測定もある。また煙の曝露を受ける消防士の調査もある。曝露者と対照者で有意な差を示す結果もあるが，両者で濃度分布を比べると重なる部分が多い。そのため有意差がない結果も多い。喫煙の影響を調査した結果では，喫煙者で高い傾向が見られる。がんとの症例対照研究でもその結果は様々である。過去の職業性曝露の調査のまとめは既報を参照されたい（6）。

筆者らも，様々な職業性PAH曝露作業者の調査を行った。北欧における煙突掃除作業者のすすの曝露の影響を調査した。煙突掃除は歴史的には，いんのう癌の発生で有名である。作業者で白血球DNA付加体に高い傾向が認められたが，喫煙の影響が大きかった（7）。

中国のコークス炉作業者の調査では，作業環境の高濃度PAHから，白血球DNA付加体濃度の増加を予測したが，作業者群と対照者群の平均値に有意な差を検出できなかった。作業者群内では，環境PAHとの関連は見られた。この原因として，対照者での暖房等による室内や一般大気汚染の影響も考えられる（8, 9）。我々と同じように高濃度曝露がある東欧の調査でも，対照者での高い結果が得られている。ただし，工場から離れた非工場地帯住民とは有意な差が見られた（10）。

韓国での産業廃棄物焼却炉作業者の調査では，曝露レベルが高くないこともあり，白血球DNA付加体濃度は，作業者群と対象者群で有意な差が見られなかった。ここでも喫煙の影響が大きかった。尿中PAH代謝物である1-ヒドロキシピレンと付加体濃度の間には有意な正の相関が認められた（11）。また造船所塗装作業者でも調査を行った。造船所では，塗装作業に水漏れ対策としてコールタール含有塗料を使うことがある。そこで，コールター

ル曝露を知るため白血球DNA付加体分析を行ったが，作業者と対照者の間に有意な差を見出すことはできなかった（12）。

環境PAH濃度とDNA付加体量の関係についてDecaprioらは，白血球DNA付加体に関しての14件の断面調査をまとめ，大気中BaP濃度と白血球DNA付加体の有意な正の相関を示しているが（13），有意な関係が見られなかった事例が多くあることも事実である。また，PAHの体内内曝露指標である尿中1-ヒドロキシピレンなどPAHの尿中代謝物を測定し，付加体濃度と比較した報告も多数あるが，それらの結果も一様ではない。

DNA付加体と遺伝子変異との関連に関しては，BaP付加体がp53遺伝子のG→T変異を起こすという報告がある（14）。Houらは，Hprt遺伝子変異を指標として解析している。ヘビースモーカーで，リンパ球付加体濃度と遺伝子変異頻度の有意な正の相関を見ている（15）。

PAH曝露の例以外には，スチレン曝露者（16, 17）や農薬曝露（18）の測定も工夫されている。白血球以外の検体を使用した例として，尿中の膀胱剥離細胞を使う方法がインドでのベンチジン作業者に応用され，この場合曝露と有意な相関を示している（19）。

4. 個人差への影響因子

以上の経験から，同じ曝露量でも付加体濃度には，非常に大きな個人差があることが明らかとなった。そこで個人差に影響する因子を考えなければならない。図2に示すように付加体量に影響する因子を，曝露から順に考えていくと，職業性や喫煙の曝露以外には食事の影響が考えられる。肉類の加熱調理によりPAHの生成が考えられるし，野菜にはがんを抑制する作用もある。喫煙以外にも一般大気の汚染の影響も考えなければならないだろう。

筆者らは，まず食事の影響を検討した。質問紙による食品の摂取頻度とリンパ球DNA付加体量との関係を解析した。肉や魚の加熱食品は付加体を増加させ，野菜類は減少させることを予測したが，顕著な傾向は見られなかった。また，血漿ビタミンとして，βカロチン，αトコフェロールを測定し付加体形成への予防的効果を検討したが，有意な影響は認められなかった（20, 21）。しかし，最近Peluso らは，ビタミンの付加体抑制効果を認めている（22, 23）。

つぎに，代謝の影響を考える。付加体が生成する過程を考えると，第1相酵素の代謝活性化の影響，第2相酵素の抱合の影響，付加体の修復酵素の影響に分けて考えなければならない。それぞれの酵素の働きを評価する指標として，酵素活性を測定するか，mRNAや酵素蛋白量を定量し酵素発現量を指標とするか，酵素遺伝子多型を分析し細胞の能力という点で評価するかという3つの視点が考えられる。

筆者らも，これらの視点に関して，いくつかの測定を行った。第1相酵素の酵素活性という視点から，CYP1A1活性と付加体量との間には有意な正の相関があることを，リンパ球を使用した調査で認めた（24, 25）。また，リンパ球におけるCYP1A1mRNA発現量と付加体量の間にも有意な正の相関を見た（26）。遺伝子多型に関する検討としては，CYP1A1や抱合酵素GSTM1の多型別に付加体量を比較した。CYP1A1のVal/Val型やGSTM1欠損型には，付加体の増加を予測したが，結果は明らかな差が認められなかった（27）。しかし，少量喫煙者では遺伝的多型の影響がより現れやすいのではないかという傾向が見られた（28）。

修復酵素に関しては，修復酵素のmRNA発現とDNA付加体量との関係を検討した。リンパ球での2種類の修復酵素ERCC1，XPCCのmRNA量とDNA付加体量を比較した結果，DNA付加体量はERCC1とは正の相関，XPCCとは負の相関を示した。この結果から，正の相関は付加体が多いため修復が亢進していると考えられる。

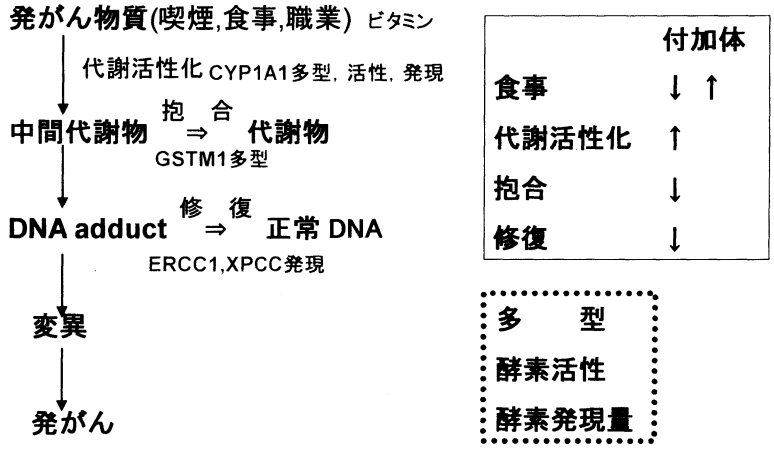

図2　DNA付加体濃度に影響する因子　筆者らが分析した指標を示す.

一方，負の相関は修復の働きが強いので付加体が少ないとの解釈もでき，正負どちらの相関もあり得ると考えられる (26)。修復酵素XPD多型とDNA付加体との間には，多型間で濃度差を認めたが，1種類の酵素での結果であり，今後の検討課題である (29)。Matulloらは，XRCC1, XRCC3, XPD遺伝子多型と付加体の関係を検討し，3つの酵素の多型の数が多いほど付加体量が多いことを示している (30)。

5. 今後の課題

白血球DNA付加体測定の問題点を考えてみる。曝露者と対照者で有意な差を示さない結果も多く見られている。DNA付加体と他の曝露指標との間にも，有意な相関が得られない結果もしばしばある。ひとつの理由としてある程度の曝露により，付加体が飽和状態になるのではないかとする考えもある (31)。そのため白血球DNA付加体測定の意義に関して否定的な総説もある (32)。

今後，検討しなければならない課題としては，1) 測定方法の改良　2) 白血球と標的臓器の関係　3) 他の種類の付加体，がん以外の疾患との関係　4) 追跡調査への利用などが挙げられる。以下，これらについて述べる。

1) 測定法の改良

^{32}Pポストラベル法は，複数の酵素反応を組み合わせた煩雑な時間の掛かる測定法である。それぞれの酵素反応の精度の検討は十分とは言えない。測定精度を上げるため，方法の標準化が検討され始めている (33)。また，ポストラベル法の中で最も時間を費やす薄層クロマトグラフィーの過程を，HPLCや電気泳動に変えた方法も考案されている (34, 35)。フローサイトメーターを利用した測定も検討された (36)。

これらの方法は，付加体濃度は測定できるが，DNAのどの部位に付加体があるかはわからない。DNA変異との関係を考えるには位置の情報も重要であり方法の開発が期待される。

また，集団での測定結果の表示には，平均値や中央値が使われている。しかし，DNA付加体濃度は個人差が大きいので，代表値としての平均値でいいのだろうか。むしろ，代表値で比較するよりも，基準値を超えた人数の割合を比較することも重要であると考える。一部の高濃度を示す人がどういう遺伝要因，生活要因をもつかという詳細な検討が必要と思われる。

2) 白血球と標的臓器の関係

白血球の付加体濃度が，体内臓器の付加体濃度を反映しているかどうかを示した結果は多くない。Wienckeらは，単核球と肺の付加体濃度の間に有意な相関を見つけた。そして，若年者での喫煙は付加体濃度を高めるとの結果を示した (37)。最近，喫煙による体内臓器のDNA付加体に関する総説が発表されている (38)。

3) 他の種類の付加体，がん以外の疾患との関係

ポストラベル法で分析できるのは，PAH等の比較的大きな分子量の付加体である。しかし，DNAには酸化的損傷やメチル化等の小さな分子量の付加体の存在も知られている。酸化的損傷の指標としては，80HdGがよく知られている。BaPにも，酸化的損傷の作用があるとも言われており，同じ白血球で80HdGとポストラベル法による付加体量を比較したところ，弱いが有意な正の相関が見られた (39)。また，80HdGは尿中での測定も盛んに行われている。同様にPAHによる付加体も修復された付加体ヌクレオチド産物が尿中に排泄されると考えられ，これらを測定することは体内の付加体の総量や修復の能力を表す指標になるだろう。

がん以外の疾患も，遺伝子の影響が指摘されている。環境化学物質のDNA付加体が生活習慣病関連の遺伝子変異を起こし，生活習慣病の進行を促進するとも考えられる。動脈硬化病変でのDNA付加体との関連が検討されている (40)。

4) 追跡調査への応用

これまでの報告は断面調査が多く，追跡調査は少ない。DNA付加体の時間的な変動はどうなのか。発がん物質に曝露後どれくらいで付加体が出来るのか，あるいは曝露中止と付加体減少の関係などもの情報は多くない。白血球の寿命の違いにより，リンパ球は比較的長い期間の曝露を反映するが，顆粒球では短い事は既に述べた。作業者を追跡して休暇前後の濃度を測定した例や，工場の生産量の減少による曝露量の低下と付加体濃度が相関していることを示した結果もある (41, 42, 43)。

白血球DNA付加体は将来の発がんの予測因子となるか。白血球DNA付加体と発がんのprospectiveな研究が始まっている。米国で医師を対象としたコホート調査の結果が発表され，白血球DNA付加体が将来の肺がんの予測因子となることが示唆されている。しかし，データのばらつきも大きく今後の結果が期待される (44, 45)。

今後は種々の曝露集団におけるDNA付加体の経時変化や長期にわたる追跡調査を通して，発がんとの関係や付加体量に及ぼす他の要因との関係を明らかにしていく必要がある。少ない研究者で分析できるバイオマーカーの数は限られており，今後は大きな研究グループによる多数のマーカーの同時測定が必要であろう。

6. 最　後　に

遺伝子の研究が盛んである。しかし遺伝子だけですべての疾患が説明できるわけではないだろう。環境因子も重要である。環境と遺伝との相互作用を追求することは衛生学の目的の1つであり，DNA付加体は環境と遺伝を結びつける鍵になると信じる。

謝　辞

佐賀大学医学部友国教授はじめ教室の皆様および共同研究の諸先生に深謝いたします。

本論文は，第73回日本衛生学会総会奨励賞講演で発表した内容を，加筆修正した。研究の一部は，文部科学省科学研究費補助金，厚生労働省がん研究助成金の援助を受けた。

文　献

（1）Randerath K , Reddy MV, Gupta RC. ^{32}P-Labeling test for DNA damage. Proc Natl Acad Sci USA 1981; 78: 6126-6129.

（2）Gupta RC. Enhanced sensitivity of ^{32}P-postlabeling analysis of aromatic carcinogen: DNA adducts. Cancer Res 1985; 45: 5656-5662.

（3）Reddy MV, Randerath K. Nuclease P1-mediated enhancement of sensitivity of ^{32}P-postlabeling test for structurally diverse DNA adducts. Carcinogenesis 1986; 7: 1543-1551.

（4）Savela K, Hemminki K. DNA adducts in lymphocytes and granulocytes of smokers and nonsmokers detected by the ^{32}P-postlabelling assay. Carcinogenesis 1991; 12: 503-508.

（5）Beach AC, Gupta RC. Human biomonitoring and the ^{32}P-postlabeling assay. Carcinogenesis 1992; 13: 1053-1074.

（6）市場正良，DNA付加体—^{32}Pポストラベル法．花岡知之，環境発がんのブラックボックスをさぐる　—産業分子疫学のチャレンジ—．川崎：労働科学研究所，1999: 75-104.

（7）Ichiba M, Hagmar L, Rannug A, Högstedt B, Alexandrie AK, Carstensen U, Hemminki K. Aromatic DNA adducts, micronuclei and genetic polymorphism for CYP1A1 and GST1 in chimney sweeps. Carcinogenesis 1994; 15: 1347-1352.

（8）Pan G, Hanaoka T, Yamano Y, Hara K, Ichiba M, Wang Y, Zhang J, Feng Y, Shujuan Z, Guan D, Gao G, Liu N, Takahashi K. A study of multiple biomarkers in coke oven workers - a cross-sectional study in China. Carcinogenesis 1998; 19: 1963-1968.

（9）Zhang J, Ichiba M, Feng Y, Pan G, Hanaoka T, Yamano Y, Hara K, Takahashi K, Tomokuni K. Aromatic DNA adducts in coke-oven workers, in relation to exposure, lifestyle and genetic polymorphism of metabolic enzymes. Int Arch Occup Environ Health 2000; 73: 127-135.

（10）Grzybowska E, Hemminki K, Szeliga J, Chorazy M. Seasonal variation of aromatic DNA adducts in human lymphocytes and granulocytes. Carcinogenesis 1993; 14: 2523-2526.

（11）Lee J, Kang D, Lee KH, Ichiba M, Zhang J, Tomokuni K, Hwang ES, Park CG, Ha M, Kim SG, Han SB, Choi JW, Lee E, Jang J, Strickland PT, Hirvonen A, Cho SH. Influence of GSTM1 genotype on association between aromatic DNA adducts and urinary PAH metabolites in incineration workers. Mutat Res 2002; 514: 213-221.

（12）Lee KH, Ichiba M, Zhang J, Tomokuni K, Hong YC, Ha M, Kwon HJ, Koh SB, Choi HR, Lee KH, Park CG, Cho SH, Hirvonen A, Strictland PT, Vermeulen R, Hayes RB, Kang DH. Multiple biomarkers study in painters in shipyard in Korea. Mutat Res 2003; 540: 89-98.

（13）Decaprio AP. Biomarkers: coming of age for environmental health and risk assessment. Environ Science Technology 1997; 31: 1837-1848.

（14）Denissenko MF, Pao A, Tang MS, Pfeifer GP. Preferential formation of benzo(a)pyrene adducts at lung cancer mutational hotspots in p53. Science 1996; 274: 430-432.

（15）Hou SM, Yang K, Nyberg F, Hemminki K, Pershagen G, Lambert B. Hprt mutant frequency and aromatic DNA adduct level in non-smoking and smoking lung cancer patients and population controls. Carcinogenesis. 1999; 20: 437-444.

（16）Vodièka P,Vodièková L, Trejbalová K, Šrám RJ, Hemminki K. Persistence of O^6-guanine DNA adducts in styrene-exposed lamination workers determined by ^{32}P-postlabelling. Carcinogenesis 1994; 15: 1949-1953.

（17）Holz O, Scherer G, Brodtmeier S, Koops F, Warncke K, Krause T, Austen A, Angerer J, Tricker AR, Adlkofer F, Rüdiger HW. Determination of low level exposure to volatile aromatic hydrocarbons and genotoxic effects in workers at a styrene plant. Occup Environ Med 1995; 52: 420-428.

（18）Peluso M, Merlo F, Munnia A, Bolognesi C, Puntoni R, Parodi S. ^{32}P-postlabeling detection of DNA adducts in peripheral white blood cells of greenhouse floriculturists from western liguria, Italy. Cancer Epidemiol Biomarkers Prevent 1996; 5: 361-369.

（19）Zhou Q, Talaska G, Jeager M, Bhatnagar VK, Hayes RB, Zenzer TV, Kashyap SK, Lakshmi VM, Kashyap R, Dosemeci M, Hsu FF, Parikh DJ, Davis B, Rothman N. Benzidine-DNA adduct levels in human peripheral white blood cells significantly correlate with levels in exfoliated urothelial cells. Mutat Res 1997; 393: 199-205.

（20）Wang Y, Ichiba M, Oishi H, Iyadomi M, Shono N, Tomokuni K. Relationship between plasma concentrations of β-carotene and α-tocopherol and life-style factors and levels of DNA adducts in lymphocytes. Nutrition Cancer 1997; 27: 69-73.

（21）Wang Y, Ichiba M, Iyadomi M, Zhang J, Tomokuni K. Effects of genetic polymorphism of metabolic enzymes, nutrition, and lifestyle factors on DNA adduct formation in lymphocytes. Industrial Health 1998; 36: 337-346.

（22）Peluso M, Airoldi L, Magagnotti C, Fiorini L, Munnia A, Hautefeuille A, Malaveille C, Vineis P. White blood cell DNA adducts and fruit and vegetable consumption in bladder cancer. Carcinogenesis 2000; 21: 183-187.

（23）Palli D, Masala G, Vineis P, Garte S, Saieva C, Krogh V, Panico S, Tumino R, Munnia A, Riboli E, Peluso M. Biomarkers of dietary intake of micronutrients modulate DNA adduct levels in healthy adults. Carcinogenesis. 2003; 24: 739-746.

（24）Kiyohara C, Ichiba M, Zhang J, Nakanishi Y, Takayama K,

Hara N, Hirohata T. Relationship between aromatic-DNA adduct levels and inducibility of the drug metabolising enzyme aryl hydrocarbon hydroxylase in lymphocytes. Medical Science Research 1999; 27: 651-655.

(25) Zhang J, Ichiba M, Kiyohara C, Nakanishi K, Takayama K, Hara N, Tomokuni K. The relationship between aryl hydrocarbon hydroxylase activity and DNA adducts measured by ^{32}P-postlabelling assay in lymphocytes of lung cancer patients. Biomarkers 2000; 5: 152-157.

(26) Ichiba M, Wang Y, Zhang J, Iyadomi M, Enoki M, Tomokuni K. Inter-individual variation of smoking related DNA adducts in lymphocytes - relationship to mRNA levels for CYP1A1 and DNA repair enzymes. Biomarkers 2000; 5: 235-239.

(27) Ichiba M, Wang Y, Oishi H, Iyadomi M, Shono N, Tomokuni K. Smoking-related DNA adducts and genetic polymorphism for metabolic enzymes in human lymphocytes. Biomarkers 1996; 1: 211-214.

(28) Ichiba M, Wang Y, Oishi H, Zhang J, Iyadomi M, Minagawa M, Tomokuni K. Lymphocytes DNA adducts and genetic polymorphism for metabolic enzymes in low dose cigarette smokers. Biomarkers 1998; 3: 63-71.

(29) Ichiba M, Zhang J, Kiyohara C, Nakanishi Y, Takayama K, Hara N, Enoki M, Tomokuni K. Lymphocyte DNA adducts and polymorphism in the DNA repair enzyme XPD. Biomarkers 2001; 6: 289-293.

(30) Matullo G, Palli D, Peluso M, Guarrera S, Carturan S, Celentano E, Krogh V, Munnia A, Tumino R, Polidoro S, Piazza A, Vineis P. XRCC1, XRCC3, XPD gene polymorphisms, smoking and ^{32}P-DNA adducts in a sample of healthy subjects. Carcinogenesis 2001; 22: 1437-1445.

(31) Van Schooten FJ, Godschalk RWL, Breedijk A, Maas LM, Kriek E, Sakai H, Wigbout G, Baas P, Van 't Veer L, Van Zandwijk N. ^{32}P-postlabelling of aromatic DNA adducts in white blood cells and alveolar macrophages of smokers: saturation at high exposures. Mutat Res 1997; 378: 65-75.

(32) Angerer J, Mannschreck C, Gündel J. Biological monitoring and biochemical effect monitoring of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. Int Arch Occup Environ Health 1997; 70: 365-377.

(33) Phillips DH, Castegnaro M. Standardization and validation of DNA adduct postlabelling methods: report of interlaboratory trials and production of recommended protocols. Mutagenesis 1999; 14: 301-315.

(34) Möller L, Zeisig Ml. Optimization of an HPLC method for analysis of ^{32}P-postlabeled DNA adducts. Carcinogenesis 1993; 14: 1343-1348.

(35) Terashima I, Suzuki N, Shibutani S. ^{32}P-Postlabeling / Polyacrylamide gel electrophoresis analysis: application to the detection of DNA adducts. Chem Res Toxicol. 2002; 15: 305-311.

(36) Shinozaki R, Inoue S, Choi KS, Tatsuno T. Association of benzo[a]pyrene-diol-epoxide-deoxyribonucleic acid (BPDE-DNA) adduct level with aging in male smokers and nonsmokers. Arch Environ Health 1999; 54: 79-85.

(37) Wiencke JK, Thurston SW, Kelsey KT, Varkonyi A, Wain JC, Mark EJ, Christiani DC. Early age at smoking initiation and tobacco carcinogen DNA damage in the lung. J Nat Cancer Inst 1999; 91: 614-619.

(38) Phillips DH. Smoking-related DNA and protein adducts in human tissues. Carcinogenesis 2002; 23: 1979-2004.

(39) Zhang J, Ichiba M, Hanaoka T, Pan G, Yamano Y, Hara K, Takahashi K, Tomokuni K. Leukocyte 8-hydroxydeoxyguanosine and aromatic DNA adduct in coke-oven workers with polycyclic aromatic hydrocarbon exposure. Int Arch Occup Environ Health 2003; 76: 499-504.

(40) De Flora S, Izzotti A, Randerath K, Randerath E, Bartsch H, Nair J, Balansky R, van Schooten F, Degan P, Fronza G, Walsh D, Lewtas J. DNA adducts and chronic degenerative diseases. Pathogenetic relevance and implications in preventive medicine. Mutat Res 1996; 366: 197-238.

(41) Hemminki K, Randerath K, Reddy MV, Putman KL, Santella RM, Perera FP, Young TL, Phillips DH, Hewer A, Savela K. Postlabeling and immunoassay analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons-adducts of deoxyribonucleic acid in white blood cells of foundry workers. Scand J Work Environ Health 1990; 16: 158-162.

(42) Perera FP, Dickey C, Santella R, Neill JPO, Albertini RJ, Ottman R, Tsai WY, Mooney LA, Savela K, Hemminki K. Carcinogen-DNA adducts and gene mutation in foundry workers with low-level exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. Carcinogenesis 1994; 15: 2905-2910.

(43) Hemminki K, Dickey C, Karlsson S, Bell D, Hsu Y, Tsai WY, Mooney LA, Savela K, Perera FP. Aromatic DNA adducts in foundry workers in relation to exposure, life style and CYP1A1 and glutathione transferase M1 genotype. Carcinogenesis 1997; 18: 345-350.

(44) Tang D, Phillips DH, Stampfer M, Mooney LVA, Hsu Y, Cho S, Tsai WY, Ma J, Cole KJ, Shé MN, Perera FP. Association between carcinogen-DNA adducts in white blood cells and lung cancer risk in the physicians health study. Cancer Res 2001; 61: 6708-6712.

(45) Perera FP, Mooney LVA, Stampfer M, Phillips DH, Bell DA, Rundle A, Cho S, Tsai WY, Ma J, Blackwood A, Tang D. Associations between carcinogen-DNA damage, glutathione S-transferase genotypes, and risk of lung cancer in the prospective Physicians' Health Cohort Study. Carcinogenesis 2002; 23: 1641-1646.