

ヒト遺伝子破壊株を用いた化学物質の 有害性評価

横浜市立大学大学院 黒沢 綾

化学物質のうち、生体に作用するものを生物活性物質とよぶ。このうち、疾病の診断や予防、治療などに使用するものを医薬品と呼び、我々の健康維持には欠かすことができない。しかし、医薬品には副作用と呼ばれる、本来の目的とは異なる作用を示すことがある。不測の副作用により健康を損なわないためにも、生物活性物質の効果を詳細に明らかにすることが大切である。そこで、生物活性物質の効果を明らかにするには、生物活性物質に応答してはたらく遺伝子（群）を知ることが重要である。

身近な存在である生物活性物質の一つに抗酸化剤がある。酸化ストレスは、DNA 損傷やタンパク質や脂質の酸化を招き、細胞や組織の老化促進や疾患の原因となる。そのため、抗酸化剤の一部は老化抑制や疾患予防として利用されている、あるいは利用が期待されている。しかし、私は以前、ある抗酸化剤が DNA 損傷を誘発している可能性を示唆するデータを得た。私の所属する研究室では、様々な遺伝子を破壊したヒト細胞株を保有しており、これらを用いた解析を行えば、その詳細を明らかにできると考えた。抗酸化剤の誘発する DNA 損傷は、DNA 二本鎖切断である可能性があったことから、本研究では、DNA 二本鎖切断に関わる遺伝子を破壊した細胞株を中心に、この抗酸化剤に対する遺伝子破壊株の感受性と、既知の DNA 損傷誘発剤に対する遺伝子破壊株の感受性とを比較することで、どのようなタイプの DNA 損傷を誘発しているかを調べた。

DNA 二本鎖切断の修復には、相同組換えと非相同末端連結と呼ばれる二つの経路が存在する。そこで、それぞれの経路に重要な遺伝子である *RAD54* と *LIG4* を破壊した細胞を様々な濃度の抗酸化剤で処理して培養し、生存率を調べた。その結果、*RAD54* 破壊株は抗酸化剤に野生株よりも高感受性を示し、*LIG4* 破壊株は野生株よりも耐性を示すことがわかった。遺伝子破壊株の示す感受性パターンが、トポイソメラーゼ I 阻害剤カンプトテシンで処理した時のパターンと類似していることから、抗酸化剤がトポイソメラーゼ I 阻害に関わるかどうかを調べた。トポイソメラーゼ I 変異株を抗酸化剤で処理すると、カンプトテシン処理時と同様に野生株よりも耐性を示すことがわかった。これらのことから、今回解析を行った抗酸化剤は、トポイソメラーゼ I 阻害を介して DNA 損傷を誘発している可能性が示唆された。

今後、本研究で解析した抗酸化剤の作用の詳細を明らかにすると同時に、様々な生物活性物質が DNA 損傷誘発にかかわるかどうかを調べるためのより簡便な系を構築し、化学物質の評価に貢献したい。