

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	消毒副生成物ヨード酢酸の毒性機序としてのヒストン H2AX の ADP リボシル化				
研究組織	代 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	小牧 裕佳子
	研究分担者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	伊吹 裕子
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	小牧 裕佳子

講演題目
消毒副生成物ヨード酢酸による塩基除去修復阻害の検討
研究の目的、成果及び今後の展望
微生物感染リスク低減のための消毒過程は近代における水系伝染病の抑制に多大な威力を発揮してきた。しかし、消毒剤は水中の有機物質と反応し、消毒副生成物群を副次的に生成してしまう。消毒副生成物の中でハロ酢酸類はその生成量が多い。ヨード酢酸は、生成量は低いものの、消毒副生成物の中で最も細胞毒性、遺伝毒性が高いため、その毒性影響が懸念される。これまでも、エームス試験陽性、培養細胞への DNA 損傷性、解糖系阻害とエネルギー産生低下、NIH3T3 細胞の悪性形質転換、ヒトリンパ球及び精子への DNA 損傷性、卵胞生長阻害とホルモン産生攪乱、マウスオーシスト成熟阻害などが報告されており、これらの事象の原因として、活性酸素種の過剰産生が議論されてきた。活性酸素種は、DNA の塩基を酸化する。酸化損傷塩基はグリコシラーゼによって切り出され、AP 部位となり、AP エンドヌクレアーゼが切り出しを行うことでギャップが生じる。このギャップが埋められることで塩基除去修復は完了する。DNA 損傷の高感度マーカーである γ-H2AX は、活性酸素種である過酸化水素によっても誘導される。しかし、本研究室での実験において、ヨード酢酸では γ-H2AX 誘導の抑制が複数の培養細胞で観察されてきた。 塩基除去修復の過程において、Poly(ADP-ribose)polymerases (PARPs) が、自身と他のタンパク質を ADP-リボシル化することで塩基除去修復を促す。一方で、塩基除去修復部位に PARP1 が過剰に結合すると、DNA ポリメラーゼ β などの修復酵素が修復部位にアクセスできなくなり、修復が阻害されるという報告もある、また、ヒストン H2AX の 141 番目のグルタミン酸残基は酸化損傷に応答して ADP-リボシル化され、これが 139 番目セリン残基のリン酸化である γ-H2AX を阻害するという報告もある。これらのことから、ヨード酢酸による過剰な PARP 活性化が塩基除去修復を阻害することで γ-H2AX が抑制されるのではないかと仮説を立てた。ヒト表皮角化細胞 HaCaT にヨード酢酸を 1 時間作用し、グリコシラーゼ処理を伴うアルカリコメットアッセイにて鎖切断を検討した。アルカリコメットアッセイでは AP 部位、一本鎖切断、二本鎖切断を検出できるが、グリコシラーゼ処理を行うことで、塩基除去修復の初期段階である、グリコシラーゼによる切り出しを受けていない塩基損傷も検出することが可能となる。グリコシラーゼ処理を行うことにより、コメットアッセイで検出される DNA 損傷量が増加した。ヨード酢酸によって塩基除去修復の基質となる塩基損傷が生成することが示唆され、また、塩基除去修復の切り出し過程を阻害している可能性が示唆された。消毒副生成物による DNA 損傷誘導の研究は数多くあるが、その修復阻害についての詳細な報告はなく、本研究は消毒副生成物分野に全く新しい知見をもたらす。