

論文内容要旨

論文題名

遺伝毒性に対する実質的な閾値形成における DNA ポリメラーゼ κ の役割に関する研究

専攻科目名 毒物学 氏名 兼丸祐紀

内容要旨

遺伝毒性発がん物質の作用には閾値がなく如何に低用量であってもヒトに発がんリスクを及ぼすものとして、医薬品等の化学物質に対する各種規制がなされてきた。一方、生体には DNA 修復、アポトーシスなど遺伝毒性に対する多様な生物学的防御機構が備わっており、これらが遺伝毒性物質の作用に対する実質的な閾値を形成している可能性が考えられる。本研究では、DNA 損傷を乗り越えて複製を行うことで細胞死を回避する機構である損傷乗り越え DNA 合成(TLS)に関わるポリメラーゼの一種、DNA ポリメラーゼ κ (Pol κ)について、遺伝毒性の閾値形成における役割を検討した。具体的には、Pol κ がどのような DNA 損傷に対して TLS に関わるか、及びその過程は遺伝情報にどのような影響を与えるかを明らかにすることを目的として、以下の検討を実施した。

第1章では Pol κ 欠損/不活性化ヒト細胞株を遺伝的改変により樹立し、種々の遺伝毒性物質に対する感受性を検討した。結果、Pol κ は benzo[a]pyrene の代謝中間体である benzo[a]pyrene-7,8-dihydrodiol-9,10-epoxide や mitomycin C (MMC)、bleomycin といった作用機序の異なる複数の遺伝毒性物質に対し、そのポリメラーゼ活性を介して細胞死を抑制することが示唆された。また、hydrogen peroxide 等、酸化的 DNA 損傷を引き起こす物質に対して、ポリメラーゼ活性以外の構造ドメインが細胞を保護している可能性が示された。

第2章では、Pol κ が TLS を行う過程で、遺伝情報に与える影響を明らかにするために、Pol κ 改変細胞にチミジンキナーゼ遺伝子を指標とした突然変異検出系を導入すると共に、染色体異常試験や姉妹染色分体交換試験の試験条件を設定することで、Pol κ 改変細胞を用いて点突然変異か

ら染色体レベルの異常までを総合的に評価可能な遺伝毒性評価系を構築した。

第3章では、MMCを被験物質として、Pol κ がMMCの致死作用を抑制する過程でどのようなDNA損傷をどの程度の忠実度で乗り越えているか、Pol κ 改変細胞を用いた一連の遺伝毒性評価系を用いてその機序を検討した。結果、Pol κ はMMCが誘発するCG部位でのDNA鎖間架橋をerror-freeに乗り越えることで、変異誘発や染色体レベルでの異常を抑制し、細胞の致死を回避していることが示唆された。

以上、一連の研究により、Pol κ はヒト細胞内において異なる作用機序を持つ多様な遺伝毒性物質の致死作用の抑制に関与していること、及びMMCをモデルとしてPol κ によるerror-freeなTLSが遺伝毒性を抑制することを示した。また、本研究において構築したPol κ 欠損/不活性化細胞株を用いたマルチエンドポイント遺伝毒性評価系は、ヒト細胞内で化学物質の遺伝毒性に対するPol κ の防御的役割を検討する上で有用な手段となることを示した。本研究成果は、Pol κ によるerror-freeなTLSが遺伝毒性に対する実質的な閾値形成に重要な役割を果たす科学的知見を提供することで、特に極低用量域での遺伝毒性影響と生体防御機構との関係に対する理解を深め、将来的に基礎科学と規制科学との調和がとれた遺伝毒性評価・リスク管理プロセス策定の一助になるものと考えられる。