

研究課題名：食品添加物等の遺伝毒性発がんリスク評価のための新戦略法に関する研究

分担研究課題名：DNAアダクトの定性・定量評価とアダクトのカタログ化に関する研究

研究分担者：戸塚ゆ加里 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

研究要旨

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。

A . 研究目的

ジクロロメタンやジクロロエタン等のハロゲン系炭化水素は主に工業溶剤として幅広く使用されている。また、ジクロロメタンおよび1,2-ジクロロプロパン(1,2-DCP)は、最近、職業性胆管がんの原因物質であることが示唆されているが、これらハロゲン系炭化水素と印刷業従事者で多発するヒト胆道がんとの関係は未だ良くわかっていない。本研究では、これらハロゲン系炭化水素の発がんメカニズムの解明や曝露の指標として有用な、ハロゲン系炭化水素由来のDNA付加体の解析を目的として、質量分析器機を用いたDNA付加体の網羅解析法（DNAアダクトーム法）を用いて検討を行った。

B . 研究方法

Ames 試験に用いる試験菌株である、Salmonella typhimurium TA100 に 1,2-DCP(6000ppm, 15000ppm)を 4 時間気層曝露した後にバクテリアを回収し、ゲノム DNA の抽出を行った。DNA を各種ヌクレアーゼによりモノヌクレオシドに分解し、生成する DNA 付加体を質量分析機器(AB SCIEX, TripleTOF TT6600)を用いて網羅的に解析した。得られたデータを主成分 (PCA)解析により解析し、1,2-DCP 曝露に相関する付加体の抽出を実施した。

C . 研究結果

1,2-DCPを曝露したバクテリアDNAのアダクトーム解析を行なった結果を図 1 に示す。主成分(PCA)解析を行なったところ、各曝露群毎のクラスターに分類されることがわかった。次にPCA解析のLoading plotの結果から、1,2-DCPに相関する付加体の探索を行ったところ、Name22 [M+H: 430.23]のDNA付加体が1,2-DCP曝露と相関するものとしてスクリーニングされた(図 2)。そのMS/MS解析データから、この付加体は親MSが430.23であり、412.12, 286.17, 229.15, 155.08のフラグメントを有することが推測された。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。

(倫理面への配慮)

今年度の研究には該当しないが、本研究で行う動物実験にあたっては、国立がん研究センターを含む各施設における動物実験に関する指針に則って実施し、可能な限り実験動物の苦痛軽減処置を行う。

D . 研究発表

1. 論文発表

1. 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.

2. 実用新案登録
該当なし

3. その他
該当なし

2. Komiya M, Fujii G, Miyamoto S, Takahashi M, Ishigamori R, Onuma W, Ishino K, Totsuka Y, Fujimoto K, Mutoh M. Suppressive effects of the NADPH oxidase inhibitor apocynin on intestinal tumorigenesis in obese KK-Ay and Apc mutant Min mice. Cancer Sci. 2015 Aug 27.

2. 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

E . 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
該当なし

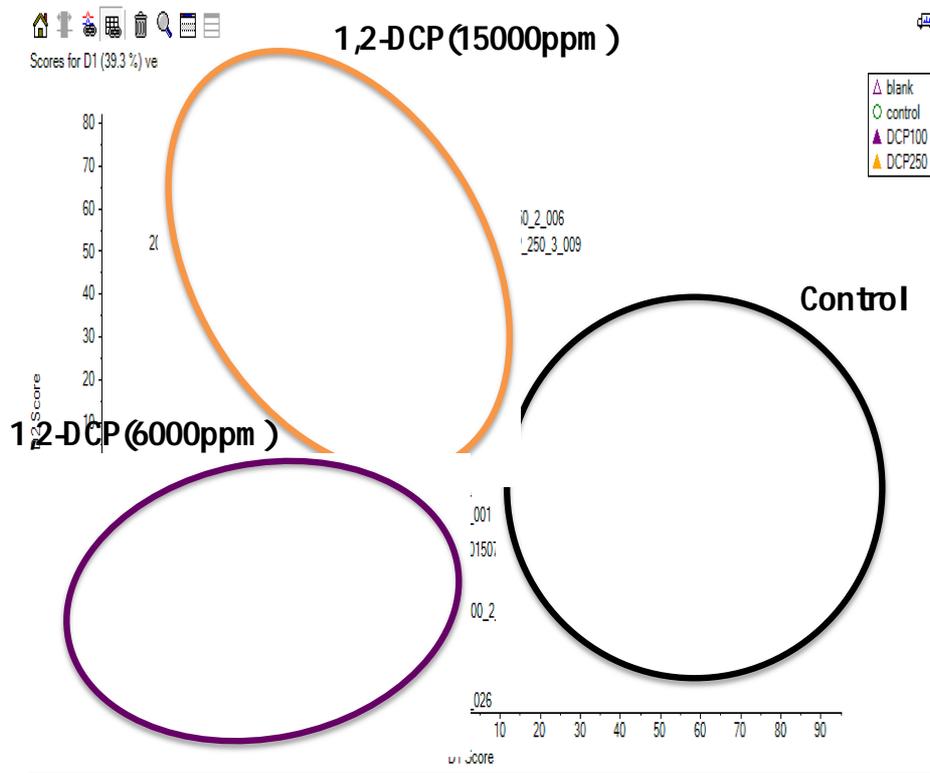


図 1 1,2-DCP曝露したバクテリアのアダクトーム解析結果

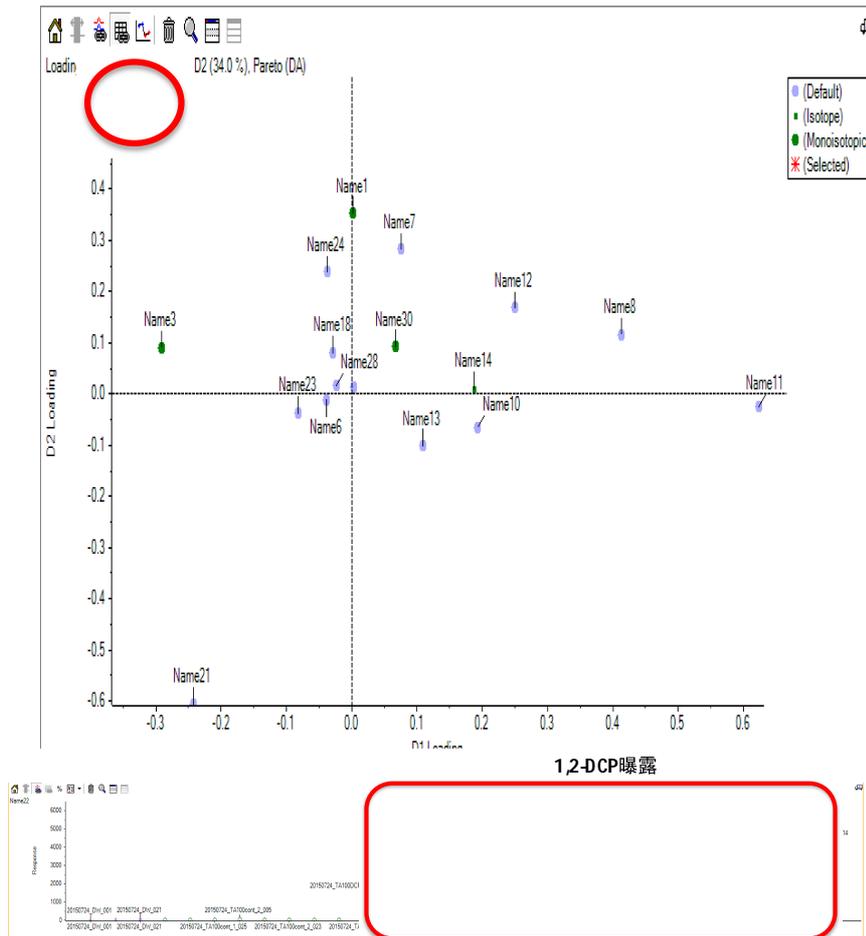


図 2 1,2-DCP曝露と相関する付加体の探索結果

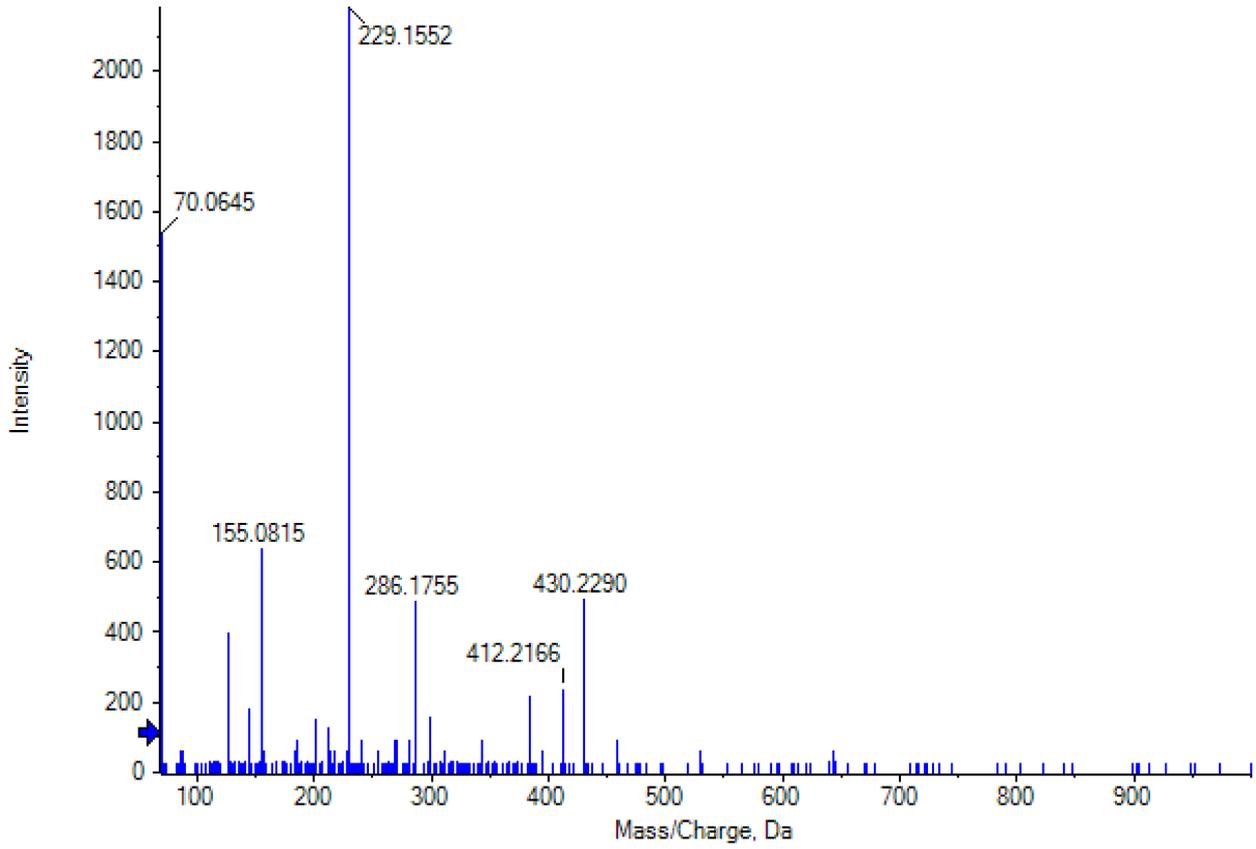


図3 1,2-DCP曝露と相関する付加体(Name22)のMS/MSデータ