

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	消毒副生成物ハロアセトニトリル類の高倍数体化誘導のメカニズム解明				
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			
	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	消毒副生成物ハロアセトニトリル類による細胞周期への影響
------	-----------------------------

研究の目的、成果及び今後の展望	<p>水系感染症を防ぐために浄水処理過程で投入される消毒剤が、水中の有機物と反応し非意図的に生成する物質群を消毒副生成物という。消毒副生成物においては細胞毒性、変異原性、遺伝毒性、発がん性、催奇形性などが報告されてきたが、その毒性機序・発がん機序は依然不明なものが多い。消毒副生成物の中には DNA 損傷性を持つものが多いが、細胞には損傷を受けた DNA が複製されないよう細胞周期チェックポイントという制御機構が備わっており、その異常は遺伝的不安定性をもたらす。そこで本研究では、DNA 損傷誘発後の培養細胞の応答を細胞周期攪乱という観点から明らかにすることを目的とした。</p> <p>チャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞にジプロモアセトニトリル (DBAN)、ヨードアセトニトリル (IAN) を 4 時間作用し、その後培地を交換し、48 時間まで培養を続けた。トリプシン回収した細胞をエタノール固定し、Propidium Iodide (PI) で染色し、フローサイトメーターにて DNA 量解析をおこなった。哺乳細胞の細胞周期は G1 期、S 期、G2 期、M 期から成る。DNA 複製前の G1 期は 2N の DNA 量を持ち、DNA 複製後の G2 期では 4N の DNA 量を持つ。IAN 作用条件では細胞周期が大きく変化し、24 時間後には 4N 体への著しい偏りが見られた。48 時間後は 4N に加え 8N 体の蓄積も見られた。DBAN を作用した細胞でも 24 時間後に 4N ピークへの偏りが見られたが、IAN とは異なり、48 時間後に 8N ピークは確認できなかった。IAN、DBAN 作用後の CHO 細胞の核形状と微小管構造、中心体を蛍光免疫染色し観察した。IAN 作用では特に、多くの核が連なるような形状を持つ細胞が 48 時間以降から蓄積した。DBAN 作用でもそのような核形態は見られたが、巨大化した核を持つ細胞も多く見られた。CHO 細胞に IAN、DBAN を 4 時間作用した直後では微小管構造が不明瞭となっていた。中心体は S 期の後半に複製し、G2 期の終わりから M 期の始まりにかけてお互いが核の反対側に位置するように移動する。2 つの中心体が位置した方向に細胞分裂が起こるため、中心体は重要な位置情報を与える。よって、通常は 1 つまたは 2 つの中心体を持つはずであるが、IAN を作用した細胞では、4 時間の作用直後から 3 つ以上の中心体を持つ細胞が確認でき、72 時間までその割合は増加した。DBAN では作用直後では 1 つまたは 2 つの中心体を持つ細胞が多く見られたが、24 時間以降から 3 つ以上の中心体をもつ細胞が出現し、72 時間にかけてその割合は増加した。さらに、細胞周期依存的に異なる蛍光を発するプローブ Fucci を導入した細胞を用い、細胞周期上の位置を正確に決定することを試みた。IAN を作用した細胞では、4N の DNA 量を持ちながら、G1 期を示す細胞が多く見られた。IAN、DBAN の作用により、細胞分裂に何らかの障害が起こっていることが示唆された。</p> <p>消毒副生成物は、疫学調査にて膀胱がんや妊娠不良との関連を示唆されており、そのどちらにも細胞周期制御は非常に重要な役割を持つ。今後、サイクリン抗体を用いるなど、これら試験物質の細胞周期進行に与える影響をさらに追及していく予定である。</p>
-----------------	--