

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

研究テーマ	人口減少と災害に起因する消毒副生成物による健康リスクの解明 —消毒副生成物ヨードアセトニトリルによる4倍体細胞の出現とその機構—				
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	消毒副生成物ハロアセトニトリル類による高倍数体細胞の出現とハロゲン置換との関連
------	---

研究の目的、成果及び今後の展望

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・発がん機序は不明なものが多い。消毒副生成物の中でもハロアセトニトリル類（HANs）は水道水全体の毒性への寄与が高いことで知られる。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。本研究では、DNA損傷誘発後の応答としての細胞周期攪乱に注目した。これまでに、ヨード一置換体であるヨードアセトニトリル（IAN）は通常よりもゲノムが倍加した高倍数体細胞を誘導することを明らかにしており、今年度は他のHANsでも同様の細胞周期攪乱が起こるのかを検証することを目的とした。

チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞にIAN、ブロモアセトニトリル（BAN）、ジブロモアセトニトリル（DBAN）、クロロアセトニトリル（CAN）、ジクロロアセトニトリル（DCAN）、トリクロロアセトニトリル（TCAN）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合成準備期であるG1期は通常ゲノムを2セット持つ2倍体（2n）で、S期にDNA合成が行われ4倍体（4n）になる。その後分裂準備期であるG2期を経てM期に有糸分裂が行われ、細胞分裂が完了すると細胞はまた2nに戻る。ヨウ素一置換体であるIAN作用条件ではDNA量分布が4nに大きく偏った後、8nのDNAを持つ細胞が出現した。臭素一置換体であるBAN、塩素一置換体であるCANでも同様に、8n細胞が出現したが、ハロゲン二置換体であるDCAN、DBAN、三置換体であるTCANでは8n細胞は見られなかった。8n細胞が出現した原因がDNA損傷由来であるかを調べるために、DNA損傷機構が既知のDNA損傷剤であるUVBおよびBleomycinをCHO細胞に作用し、同様にDNA量解析を行ったが、8n細胞は検出されなかった。さらに、各物質によるDNA損傷誘導を調べるために、 γ -H2AXの誘導をウェスタンブロッティングにて検出したが、 γ -H2AXの誘導の強さと8n細胞の出現の程度に関連は見られなかった。

浄水処理において消毒処理は必ず行われるため、消毒副生成物は水道水中に常に存在し、ヒトは生涯に渡って曝露を受ける。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、HANsによる高倍数体化の機構を解明していく予定である。