

P-063

Efficiencies of formation and repair of 3-NBA-induced DNA adducts

Soichiro Hagio¹, Masanobu Kawanishi¹, Takeji Takamura², Tomonari Matsuda³, Takashi Yagi¹

¹Frontier Science Innovation Center and Graduate School of Science, Osaka Pref. Univ.; ²Department of Applied Chemistry, Kanagawa Institute of Technology; ³Graduate School of Engineering, Kyoto Univ.

The urban air contaminant 3-nitrobenzanthrone (3-NBA) is thought to induce mutation and cancer through forming several DNA adducts. In previous research, we quantified NBA-DNA adducts in human cultured cells using LC/MS/MS and ³²P-postlabeling methods. dG-N²-ABA and dG-C8-N-ABA were detected as major adducts in the LC/MS/MS, while dA-N⁶-ABA was detected as a major adduct in the ³²P-postlabeling analysis. In the preset study, therefore, to explain this discrepancy between two analyses, we measured detection efficiency of the adducts in each methods. In this study, known amounts of oligonucleotides containing single adduct site-specifically were analyzed by both methods and detection efficiencies were determined. Using these efficiencies we requantified the amount of the adducts in the cells. Finally, we elucidate the mechanism of NBA-mutagenesis through adduct formation, repair and TLS using data of repair efficiencies and mutation frequencies of these adducts.

大気汚染物質3-ニトロベンズアントロンによるDNA付加体の生成および修復の効率

萩尾宗一郎¹、川西優喜¹、高村岳樹²、松田知成³、八木孝司¹

¹大阪府大・先端科学イノベーションセンター・理学系研究科、²神奈川工大・応用化学科、³京都大・工学研究科

3-ニトロベンズアントロン(3-NBA)は、変異原性、発がん性を持つ大気汚染物質である。3-NBA は DNA 付加体を形成することで突然変異を誘発すると考えられている。これまでに ³²P-ポストラベル法および LC/MS/MS 法を用いてヒト培養細胞中の 3-NBA-DNA 付加体の解析を行った。その結果検出量の多い付加体は、³²P-ポストラベル法では dA-N⁶-ABA、LC/MS/MS 法では dG-N²-ABA および dG-C8-N-ABA であった。この矛盾は DNA の前処理法や解析方法の違いが原因であると考えられる。そこで本研究では、既知量の DNA 付加体を含むオリゴ DNA をそれぞれの方法で前処理・定量することで、各解析法における付加体の検出効率を求めた。この検出効率値を用いて改めて各付加体を定量した。また、細胞に DNA 修復時間を与えた後付加体量を定量することで、各付加体の修復(除去)速度を調べた。一方、DNA 付加体ごとの突然変異誘発率が部位特異的修飾プラスミドを用いた実験で求められている。本研究では、これら変異誘発率と付加体生成量・DNA 修復速度測定の結果から、突然変異誘発に寄与の大きい NBA-DNA 付加体を報告する。

P-064

Tumor promoting activity of polycyclic aromatic compounds

Kentaro Misaki, Kenji Takamori, Hideoki Ogawa, Mitsuaki Yanagida

Institute for Environmental and Gender Specific Medicine, Graduate School of Medicine, Juntendo University

Polycyclic aromatic compounds in diesel exhaust particles are thought to be relevant to lung and bladder cancer in several epidemiologic studies. Although many studies about carcinogenicity, mutagenicity and tumor initiating activity of these compounds were reported, the study about their promoting activity was few (S. Asada et al. *Mutat. Res.*, 2005). In this study, using mouse embryo fibroblast cells transfected with v-Ha-ras gene (Bhas 42 cells) (K. Ohmori et al. *Mutat. Res.*, 2004), transformation assay for promoting activity was done for 6 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and 7 oxygenated PAHs which exist in diesel exhaust particles. It was first found that PAHs such as benzo[*k*]fluoranthene and benzo[*b*]fluoranthene have significantly high, and oxygenated PAHs such as 1,2-naphthoquinone and benzo[*a*]fluorenone have high promoting activities by this method. Additionally, it is scheduled to examine the relevance of promoting activity for polycyclic aromatic compounds with the formation of reactive oxygen species and other factors (aryl hydrocarbon receptor (AhR) activity etc.).

多環芳香族化合物類の発ガンプロモーション活性

三崎健太郎、高森建二、小川秀興、柳田光昭
順天堂大学大学院医学研究科環境医学研究所

ディーゼル排気ガス曝露と、肺ガンや膀胱ガン等の発症の関連性が疫学研究から指摘されており、多環芳香族化合物類(多環芳香族炭化水素(PAHs)や含酸素 PAHs などを含む)の寄与が考えられる。これらの化合物の発ガン性試験やイニシエーション過程に関する研究は数多く行われているが、プロモーション活性についての報告例は少ない(S. Asada et al. *Mutat. Res.*, 2005)。そこで本研究では、ディーゼル排気ガス中に多く存在することが知られている6種のPAHsと7種の含酸素PAHsに対して、マウスの胚線維芽細胞(BALB/3T3にHa-rasを組み込んだ細胞、Bhas42細胞)を用いて(K. Ohmori et al. *Mutat. Res.*, 2004)、細胞形質転換試験を行うことにより、プロモーション活性を調べた。

その結果、ベンゾ[*k*]フルオランテンやベンゾ[*b*]フルオランテンなどのPAHsが高活性を示し、1,2-ナフトキノンやベンゾ[*a*]フルオレンオンなどの含酸素PAHsも活性を示すことが新たに見出された。今後、各化合物の活性酸素種生成能やアリルヒドロカーボンレセプター(AhR)活性化等を調べ、これらの化合物によるプロモーション活性にどのようなシグナル機構が働いているのかを明らかにしていきたい。