

京都大学	博士 (医科学)	氏 名	Liton Kumar Saha
論文題目	Differential Micronucleus Frequency in Isogenic Human Cells Deficient in DNA Repair Pathways Is a Valuable Indicator for Evaluating Genotoxic Agents and Their Genotoxic Mechanisms. (DNA 修復欠損細胞を使った高感度変異原性検出法の樹立)		
(論文内容の要旨) The micronucleus (MN) test has become an attractive tool both for evaluating the genotoxicity of test chemicals because of its ability to detect clastogenic and aneugenic events and for its convenience. As the MN assay has been mostly performed using only DNA repair-proficient mammalian cells, the applicant believed that the comparison of the MN frequency between DNA repair-proficient and -deficient human cells may be an excellent indicator for detecting the genotoxic potential of test chemicals and for understanding their mode of action. To address this issue, the following five genes encoding DNA-damage-response (DDR) factors were disrupted in the TK6 B cell line, a human cell line widely used for the MN test: <i>FANCD2</i> , <i>DNA polymerase ζ (REV3)</i> , <i>XRCC1</i> , <i>RAD54</i> , and/or <i>LIG4</i> . Using these isogenic TK6 cell lines, the MN test was conducted for four widely-used DNA-damaging agents: methyl methanesulfonate (MMS), hydrogen peroxide (H ₂ O ₂), γ-rays, and mitomycin C (MMC). The frequency of micronuclei in the double strand break repair-deficient <i>RAD54^{-/-}/LIG4^{-/-}</i> cells after exposure to γ-rays, H ₂ O ₂ , MMS and MMC was 6.2-7.5 times higher than that of parental <i>wild-type</i> TK6 cells. The percentages of cells exhibiting micronuclei in the base excision repair- and single strand break repair-deficient <i>XRCC1^{-/-}</i> cells after exposure to H ₂ O ₂ , MMC and MMS were all ~5 times higher than those of <i>wild-type</i> cells. In summary, a supplementary MN assay using the combination of <i>RAD54^{-/-}/LIG4^{-/-}</i> , <i>XRCC1^{-/-}</i> and <i>wild-type</i> TK6 cells is a promising method for detecting the genotoxic potential of test chemicals and their mode of action.			

(論文審査の結果の要旨)

変異原性は、化学物質が染色体 DNA を損傷し、DNA 損傷が不正確に修復されて起こる。DNA 損傷は多種類あり、多種類の DNA 損傷修復タンパクがそれぞれ特定の種類の DNA 損傷を修復する。有害化学物質を規制する法律（化審法）は、ヒト TK6 細胞を使い、法律で定められた変異原性検出試験（小核テスト等）を実施することを推奨している。この変異原性検出試験は、感度が低いという問題がある。従来の試験は正常（野生型）細胞のみを利用し、野生型細胞は迅速かつ正確に DNA 損傷を修復できるが故に、変異原性検出の感度が低いのは当然である。本研究は、感度の問題を解決する為に、ヒト TK6 細胞から DNA 損傷修復酵素の遺伝子欠損細胞を作製した。複数種類の DNA 修復酵素の欠損細胞を解析したところ、XRCC1 欠損細胞あるいは RAD54/LIG4 二重欠損細胞を使うと、多様な変異原性を感度良く検出できることがわかった。小核テストを実施し、従来の野生型 TK6 細胞のみを利用する方法に比べ、これらの変異 TK6 細胞を使う方法により変異原性の検出感度が 5-7 倍上がった。

以上の研究は、化学物質の変異原性の解明に貢献し環境医学に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 30 年 12 月 12 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公表可能日 年 月 日