

【基盤研究(S)】

総合系 (環境学)



研究課題名 ヒトゲノム編集細胞を使った、化学物質の薬理作用・有害性を解析するシステムの構築

京都大学・大学院医学研究科・教授 たけだ しゅんいち
武田 俊一

研究課題番号： 16H06306 研究者番号： 60188191

研究分野： 環境学 環境解析学 放射線・化学物質影響科学

キーワード： 生物影響、トキシコロジー、人体有害物質

【研究の背景・目的】

背景、発がん性化学物質を規制する場合の問題点

化学物質審査規制法(化審法)は有害物質を規制する。有害性の中で最も重要なものは変異原性(発がん性)である。化審法で規定された変異原性検出試験は、30年以上前に開発された手法であり、2点の問題がある：①感度と特異性が低い(Ref. *Mutat. Res.* 588:47,2005)、②変異原性化学物質が作るDNA損傷の種類(変異原性の原因になる、例、DNA切断、塩基損傷)を全く解析できない。従来の検出試験は、DNA修復能が正常な野生型細胞のみを利用したバイオアッセイなので、化学物質が作ったDNA損傷を細胞が正確かつ迅速に修復でき(損傷が変異に変換されない)、感度が低いのは当然である。

有害物質を規制する為に、将来に必要な技術は、化学物質の構造から各化学物質の有害性をコンピューターによって(*in silico*手法によって)予測する技術である。*in silico*手法の開発が必要不可欠な理由は、多種類の新規有害物質に対して、それぞれの有害性を実験的に調べることに膨大なコストがかかるからである。

*in silico*手法を開発するには、高品質の学習データが必須である。現在の*in silico*手法(QSAR)は、Amesテスト(化審法で規定された、細菌を利用した変異原性検出試験)の実験結果を学習データに使う。感度と特異性の問題故に、化審法で規定された変異原性検出試験から作られるデータは、コンピューターの学習データとして相応しくない。また、化審法で規定された検出試験は、変異原性化学物質が作るDNA損傷の種類を全く区別できない。区別する学習データを作らない限り、化学構造からDNAへの化学反応性をコンピューターに予測させることはできない。

研究の目的

前記①,②の問題点を、ヒトTK6(化審法で利用が推奨)からDNA修復酵素ミュータントを作製して解決する。我々は、過去に問題点をニトリ DT40細胞からDNA修復酵素ミュータントを使うことにより解決し、その新しい変異原性検出試験法の妥当性を米国、National Toxicology Program(NTP)と共同して検証した(Ref.当該研究課題と関連の深い論文)。妥当性検証の為に必要なゴールドスタンダード化学物質ライブラリー(生物作用がよく解析された化学物質、10,000種の収集物)は、米国NTPのみが整備し、日本にも欧州にもない。

【研究の方法】

- (1) ゲノム編集でDNA修復酵素欠損TK6細胞を作り、変異原性物質を検出する試験法を開発。従来の変異原性検出試験は、DNA修復能が正常な野生型TK6細胞を利用したバイオアッセイである。我々の提案では、(i)この野生型細胞TK6を利用した、化審法のバイオアッセイに加えて、(ii)DNA修復酵素欠損TK6細胞を利用したバイオアッセイも併用する。そして(ii)が(i)より強い変異原性を示した化学物質のみを変異原性陽性と判定する。(i)を陰性対照に利用することにより従来のバイオアッセイの特異性を向上できる。
- (2) (1)の試験法の妥当性をNTPと共同してH28-31年に検証
- (3) 変異原性のメカニズムについて、様々な新規の経路を解明する(全期間)。
- (4) DNA修復酵素欠損TK6細胞を作り、変異原性物質のメカニズムを解析する試験法を構築
- (5) メカニズムの情報を基に、変異原の有無を*in silico*に予測する手法を開発
まずQSARの学習データのなかで偽陽性の可能性があるデータについて、新しい変異原性検出試験法によって再解析する。

【期待される成果と意義】

期待される成果は、前記①,②の問題点を両方解決し、世界標準の変異原性検出試験法を樹立することにある。意義は、有害化学物質の合理的規制を確立することによる産業振興への直接的貢献である。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

Nishihara K, Huang R, Zhao J, Shahane SA, Witt SK, Smith-Roe SL, Tice RR, Takeda S, Xia M. (2016) Identification of genotoxic compounds using isogenic DNA repair deficient DT40 cell lines on a quantitative high throughput screening platform. *Mutagenesis* 31 (1): 69-81.

【研究期間と研究経費】

平成28年度-32年度 140,900千円

【ホームページ等】

<http://rg4.rg.med.kyoto-u.ac.jp/>