

【基盤研究(S)】

総合・新領域系（複合新領域）



研究課題名 遺伝子破壊細胞を使った、化学物質の生物効果を ハイスループットに解析するシステム

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

研究分野：複合新領域 環境学 放射線・化学物質影響科学

キーワード：生物影響

【研究の背景・目的】

有害化学物質に関して化学物質審査規制法（化審法）などの法規制がある。化審法で定められた、化学物質の発がん性を検出するバイオアッセイには、数十%もの偽陽性がある。化学物質の毒性試験のような、ユーザーが極めて少ない測定法の場合には、偽陽性を検証することは事実上不可能である。この問題を克服するために、我々は、従来のバイオアッセイのように野生型細胞のみを解析するのではなく、遺伝子破壊株（ニワトリ DT40 細胞由来）も使う遺伝学的手法（Genetic Toxicology）を提案する。

この手法では、例えば、ある化学物質が、DNA 修復遺伝子が欠損した細胞を、野生型細胞よりも、より強く増殖を抑制したとすれば、その化学物質の毒性は DNA 修復酵素と関連していると確実に結論できる。この遺伝学的手法では、野生型細胞を陰性対照に使用して偽陽性を検証することに注目されたい。そして変異原性化学物質によって生じた DNA 損傷を効率よく修復できないミュータントを使ってバイオアッセイすることによって、変異原性をより高感度に検出する。

以下の目的の研究を実施する：

- (1) 我々の提案した、化学物質の変異原性をハイスループットに検出する手法は、米国 National Toxicology Program (NTP) で採用された。その予算を使い、我々は、米国 National Institute of Health (NIH) Chemical Genomics Center (NCGC) と共同研究して、予備実験を済ませた。検出手法をさらに改善する。
- (2) NCGC で行われた実験のデータは、すべて PubChem に保管され、それを全部公開するというルールがある。この公開データを使い、化学物質の構造から、その毒性を予測するプログラムを作る。
- (3) 発がんを抑制する DNA 修復遺伝子、ミトコンドリア品質管理、小胞体ストレス応答の、各経路の遺伝子破壊細胞を作り、表現型解析する。そして、これらの遺伝子破壊細胞を使った、化学物質の、新しい毒性検出法を樹立する。
- (4) 放射線や化学物質が持つ変異原性の分子機構を解明する。

【研究の方法】

- (1) DT40 細胞を使った化学物質の変異原性をハイスループットに評価する手法を実用に耐えるものに改良する。1年間、大学院生を NCGC に派遣し、実験手法を改善する。

- (2) 我々の遺伝学的手法（Genetic Toxicology）を使えば、有害化学物質の生物作用がどの遺伝子に関連しているかを確実に解明できる。そして、この確実なデータが、ハイスループット解析によって大量に生産され、PubChem に保管・公開される。この公開データを学習データに使用して、化学物質の構造からその毒性を予測するプログラムを創る。

- (3) 化学物質の、細胞増殖に与える影響を解析するだけで、様々な種類の毒性を網羅的に解析できるシステムを構築する。

- (4) ニワトリ DT40 細胞株から相同組換え等の DNA 修復機構に関与する遺伝子を網羅的に破壊する。同時に、遺伝子破壊細胞を表現型解析する手法を開発する。

【期待される成果と意義】

国内では、化学物質の毒性を試験する方法が開発された時に、その感度や特異性を検定するシステムがない。一方、米国 NIH では、10,000 種類の標準化学物質（生物作用が詳細に解明されたゴールデンスタンダードの化学物質）を使って、感度や特異性を検定できる。そして米国 NCGC では、ロボットを使って、標準化学物質ごとに 5 桁もの幅の濃度において、その毒性・薬理作用を解析できる。我々は、この最先端の評価システムを利用し、我々の創った毒性試験を検証・改良する。この国際共同研究によって、世界標準の毒性試験を開発する。この手法は、新薬開発にもそのまま応用できる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- 1) 細胞工学 Vol.29, No1:14-20, 67-72, 2009
- 2) Evans TJ. et al, DNA Repair (Amst). 9: 1292-8, 2010

【研究期間と研究経費】

平成 23 年度 - 27 年度
165,300 千円

【ホームページ等】

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