

0-1-6

GO 試験を使った遺伝子損傷リスクの分類とその活用

Risk classification of DNA damage based on the Guanosine Oxidation Test

○高木 厚司¹⁾²⁾, 梶原 聡子³⁾

1) 九州大学大学院医学研究院, 2) 株式会社 TAS プロジェクト, 3) 株式会社新日本医薬

dG ⇒ 8-oxo-dG oxidation (GO test) indicates the probability of the oxidative induction of dG intra- and/or extra-cellularly. Therefore, the GO test can indicate the influence of chemicals and/or irradiations exposed to the gene in aqueous solution. Based on results during 10 years, the GO test seems to be useful for quality control and new development especially in functional food, natural crude medicine, cosmetics etc.

【目的】

点突然変異（一塩基置換）による遺伝情報の書き換えを誘導する遺伝子損傷は、突然変異や癌の発生率と強く相関するばかりでなく、細胞死（アポトーシス）、細胞老化、生殖毒性の指標として有用であることが広く知られている。我々は、高い確率で G:C ⇒ T:A トランスバージョンを生起する 8-oxo-dG が、非酸化体である dG から誘導される比率を試験管内で定量化することで、被検対象素材やそれを含有する商品の経口摂取後、または、経皮、あるいは、吸引曝露時に、生体に生じる生物毒性リスクを推測できると考えている（グアノシン酸化誘導試験、GO 試験）。本発表では、過去 10 年間に実施した GO 試験の結果から、健食（或いは、化粧品）に潜在する遺伝子損傷リスクを分類し、既存商品のリスク管理や新規商品の開発に役立つためのフローチャートを提示する。

【GO 試験の方法】

被検物質を含む水溶液中に dG の標準物質を添加し、254nm（核酸の励起波長）の紫外線照射 0, 1, 2 時間後の、8-oxo-dG/dG の含量比の経時的変化を求める。水溶媒標準（脂溶性の場合は、5% DMSO 溶媒標準）の濃度比より 2 倍以上の上昇を認めた場合を酸化誘導増強、逆に、半分以下の場合を酸化誘導抑制と判定する。また、検体をヒト肝臓の代謝酵素を含有する S9 mix 溶液中で酵素反応（37°C、1 時間）（前処理）することで、摂取後の肝臓代謝の効果を推定する。さらに、代表的なヒドロキシラジカル誘導剤である臭素酸カリウムを添加し、8-oxo-dG の産生増強を抑制する効果から抗酸化活性の有無を判断する。

【結果】

既知の標準物質に関し、変異原性試験（エームス試験）との一致率：90.0%、発がん試験との一致率 72.0%

【結論】

GO 試験は、（1）予防医学的な機能を有するとされる成分を複合的に含有し、且つ、必須アミノ酸を含有する機能性食品関連素材の生物毒性（特に、変異原性）や抗酸化活性を推測するのに適している。（2）S9 mix での前処理により、経口摂取後の生体代謝の影響を考慮できる。（3）紫外線照射で核酸を光励起させて評価する手順から光毒性を推定できる。（4）実験動物や細菌、細胞を一切使用せず、動物実験代替法としても大変合理的。（5）溶媒中（体液中）のヒドロキシラジカルの産生量を間接的に推測するものでもあり、半定量評価（相対的な強度比較）ができる、等の特長がある。以上より、GO 試験を導入する事で、特に、健康食品や化粧品関連分野において、原材料（入口）と最終商品（出口）で、製品に潜む遺伝子損傷リスクを合理的に分類・分別でき、「既存商品の品質管理」や「新規商品の開発」に活用できる。