

P-043

DNA-damaging capability of ultrafine particles

Sayaka Ogo¹, Masanobu Kawanishi¹, Yukari Totsuka², Keiji Wakabayashi², Takashi Yagi¹

¹Frontier Sci. Innovation Center, Osaka Pref. Univ.; ²Cancer Prev. Basic Res. Project, Natl. Cancer Center Res. Inst.

Nanomaterials have been used in various industrial fields, however, genotoxicity to higher animals is still unknown.

In the present study, we evaluated genotoxicity of multiwalled carbon nanotubes (MWCNTs), fullerenes, ferrites and kaolines to mammalian cells by the micronucleus (MN) assay, the sister chromatid exchange (SCE) assay and phosphorylation of histone H2AX. In the MN assay and the SCE assay, all four nanomaterials induced MN and SCE, and the nanomaterials except for MWCNTs caused phosphorylation of histone H2AX (γ H2AX). In A549 cells treated with 200 μ g/mL MWCNTs, fullerenes, ferrites and kaolines for 6 hours, the frequencies of cells with MN were 7.3, 13.8, 2.9 and 5.1 times higher than that of the solvent control, respectively. Similarly, the frequencies of SCE (in CHO cells treated with 2 μ g/mL of the nanomaterials for 1 hour) rose to 2.6, 11.2, 5.7 and 7.3 times. Also, γ H2AX levels (in A549 cells treated with 200 μ g/mL of the nanomaterials for 1 hour) increased 2.8, 2.1, and 2.6-fold. We will further clarify the mechanisms of DNA repair and mutagenesis from the results of various assays using DNA repair-deficient cells.

微細粒子状物質の DNA 損傷性の評価

尾後早耶佳¹、川西優喜¹、戸塚ゆ加里²、若林敬二²、八木孝司¹

¹大阪府立大学 先端科学イノベーションセンター、
²国立がんセンター研究所 がん予防基礎プロジェクト

ナノ材料は様々な産業分野への応用が期待されているが、高等動物に対する遺伝毒性はあまりわかっていない。

そこで本研究では、小核試験、姉妹染色分体交換(SCE)試験、ヒストン H2AX のリン酸化試験により、多層カーボンナノチューブ(MWCNTs)、フラーレン、フェライト、カオリンの哺乳類細胞に対する遺伝毒性を評価した。その結果、小核試験、SCE 試験では 4 種すべてのナノ材料が小核出現頻度、SCE 頻度を上昇させ、ヒストン H2AX のリン酸化試験では MWCNTs 以外のナノ材料がヒストン H2AX リン酸化を引き起こした。即ち A549 細胞を MWCNTs、フラーレン、フェライト、カオリン(すべて 200 μ g/mL)でそれぞれ 6 時間処理すると、小核出現頻度は順に溶媒対照の 7.3 倍、13.8 倍、2.9 倍、5.1 倍に上昇した。同様に SCE 頻度(CHO 細胞を 2 μ g/mL のナノ材料で 1 時間処理した)は 2.6 倍、11.2 倍、5.7 倍、7.3 倍に上昇した。また、 γ H2AX のレベル(A549 細胞を 200 μ g/mL のナノ材料で 1 時間処理した)は 2.8 倍、2.1 倍、2.6 倍に上昇した。現在、各種 DNA 修復欠損細胞株を用いた様々な試験を実施中である。これにより、ナノ材料による DNA 損傷の修復機構と上記の遺伝毒性が誘導されるメカニズムを明らかにする。

P-044

Cellular nitritive DNA damage induced by carbon black

Yusuke Hiraku¹, Yuta Matsunaga¹, Yoshiteru Horibe¹, Ning Ma², Mariko Murata¹

¹Department of Environmental and Molecular Medicine, Mie University Graduate School of Medicine; ²Suzuka University of Medical Science

Carbon black (CB) is used as a nanomaterial in industry, and causes lung cancer in experimental animals. There is a growing concern of carcinogenicity of nanomaterials via chronic inflammation in the lung. In this study, we performed immunocytochemistry to examine the formation of 8-nitroguanine, a mutagenic DNA lesion formed during inflammation, in CB (56 and 95 nm)-treated RAW 264.7 macrophage cell line. CB was sonicated and centrifuged to remove coarse agglomerates, and the supernatant was used for the experiment. We confirmed that most agglomerates in the supernatant were less than 1 μ m in diameter. CB induced 8-nitroguanine formation in the nucleus. CB of different sizes tended to exhibit different time courses in 8-nitroguanine formation. The addition of 1400W, an iNOS inhibitor, completely inhibited 8-nitroguanine formation. These results suggest that macrophages phagocytose CB and then iNOS is expressed, resulting in nitritive DNA damage and carcinogenesis in adjacent airway and alveolar epithelial cells.

カーボンブラックによる細胞内ニトロ化 DNA 損傷

平工雄介¹、松永雄太¹、堀部善照¹、馬 寧²、村田真理子¹
¹三重大学大学院医学系研究科環境分子医学、²鈴鹿医療科学大学

カーボンブラック(CB)はナノ素材として種々の産業で使用されているが、実験動物で肺がんを起こす。ナノ素材は肺組織で慢性炎症を惹起して発がんをもたらす可能性が懸念される。8-ニトログアニンとは炎症条件下で産生される変異誘発性 DNA 損傷塩基である。本研究では、マクロファージ培養細胞 RAW264.7 を用いて、CB(粒径: 56 および 95 nm)による 8-ニトログアニンの生成について免疫細胞染色法により解析した。CB は超音波処理により凝集体を分散した後、遠心により粗大粒子を除去して上清を実験に用いた。上清中の凝集体は粒径がほとんど 1 μ m 以下であった。CB はいずれの粒径でも細胞核で 8-ニトログアニンの生成を誘導したが、粒径により経時変化が異なる傾向を認めた。8-ニトログアニン生成は iNOS 阻害剤 1400W の添加により完全に抑制された。以上の結果から、マクロファージは CB を貪食して iNOS 発現および活性窒素種の産生を誘導し、隣接する気道および肺上皮細胞で DNA 損傷を起こして発がんに関与する可能性が考えられる。