

P-067

APNHを投与したラット体内におけるDNA付加体生成

○戸塚ゆ加里、川森俊人、高橋真美、武藤倫弘、杉村 隆、若林敬二（国立がんセ・研・がん予）

Formation of DNA adducts in various organs of F344 rats given APNH. Yukari TOTSUKA, Toshihiko KAWAMORI, Mami TAKAHASHI, Michihiro MUTO, Takashi SUGIMURA and Keiji WAKABAYASHI (Cancer Prevention Div. National Cancer Center Research Institute)

Norharmanのco-mutagenesis原因物質であるAPNHは代謝活性化を受けN-hydroxy体になり、更にN-acetoxy体に変換されてDNAのdeoxyguanosineと付加体を形成する。その主要な付加体の構造は、dG-C8-APNHであることが明らかとなった。そこでAPNHを投与したラット体内におけるDNA付加体生成について検討した。

APNHを10 ppmの濃度で餌に混ぜ、F344雄ラットに4週間投与した。その後ラットを屠殺し、肝臓、肺、脾臓、大腸、腎臓、膵臓、脳、胃、小腸、精巣、心臓及び膀胱を摘出した。次に各臓器からDNAを抽出し、³²P-ポストラベル法の改良付加物増感法を用いてAPNH-DNA adductの解析を行った。その結果、試験した全ての臓器からAPNH-DNA adductが検出され、そのTLCパターンは全て同じであった。そのうち、肝臓における付加体量が最も高く、そのレベルは54.7 adduct/10⁷ nucleotidesであった。続いて腎臓及び大腸での付加体量が多くそれらのレベルは各々15.5及び16.7 adduct/10⁷ nucleotidesであった。これらDNA付加体レベルは、10 ppm相当のMeIQx投与により生成する肝臓、腎臓及び大腸におけるDNA付加体レベルの約15～180倍高いことがわかった。現在、APNH投与によって誘発される腫瘍の遺伝子変異について調べている。

P-068

制がん性を期待したクロロプロピルニトロサミンから生じるDNA付加体の解析

○石川さと子、望月正隆（共立薬大）

Evaluation of DNA adducts derived from chloropropyl nitrosamines as antitumor lead compound

Satoko ISHIKAWA, Masataka MOCHIZUKI (Kyoritsu Coll. Pharm.)

【目的】N-Nitroso-N-acetoxymethyl- ω -chloro-alkylamine (chloroethyl, chloropropyl, chlorobutyl) は、アルキル基の末端をクロロ基で置換し、制がん性クロスリンク剤への応用を期待した化合物である。これらは代謝活性化を必要とせず、*S. typhimurium* TA1535、TA92 株に対してクロロ基を持たない対照化合物よりも強い変異原性を示したことから、DNAをアルキル化し、クロスリンクを形成することが示唆された。今回はクロロプロピル体とDNAとの反応成績体を解析し、二官能性ニトロサミンの活性発現機構をさらに明らかにすることを目的とした。

【実験と結果】クロロプロピル体を calf thymus DNAと37°Cで反応させ、回収したDNAを0.1M HCl中で加熱して、部分的脱プリン化を起こさせた。この溶液をDEAE-Sephadexカラムに通し、溶出液を凍結乾燥した後、水に再溶解した。この試料を逆相HPLCで分析した結果、複数のプリン付加体が検出された。生成量の多い成分についてフォトダイオードアレイ検出器でUVスペクトルを調べたところ、guanine付加体3種、adenine付加体3種を確認した。中でも5成分はクロロプロピル体の濃度依存的に生成量が増加した。反応時間を長くすると、クロマトグラムは単純化する傾向が認められた。今後、さらに反応条件を検討しながら解析を進め、各成分の同定を目指す。