OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Differential DNA damage induced by H202 and bleomycin in subpopulations of human white blood cells
Author(s)	翁, 华春
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/48969
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

氏　　名	翁　　華　春（オウ　カ　シュン）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学 位 記 番 号	第　２１８５８　号
学位授与年月日	平成 20 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 医学系研究科社会医学専攻
学 位 論 文 名	Differential DNA damage induced by H_2O_2 and bleomycin in subpopulations of human white blood cells. （H_2O_2 と bleomycin により誘発したヒト白血球のサブセット間の DNA 損傷量の差）
論文審査委員	（主査） 教　授　森本　兼曩 （副査） 教　授　磯　　博康　　教　授　的場　梁次

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

環境変異原がヒトに与える影響を監視する時は一般的に末梢血白血球またリンパ球を用いて行う。しかし、末梢血白血球またはリンパ球は複雑であり、特徴を持つ数多くのサブセット細胞を含んでいる。今までの研究は変異原により誘発した白血球のサブセット間の DNA 損傷量の差を姉妹染色分体交換、小核、単細胞ゲル泳動法（コメットアッセイ）などの測定法によって検討されたが、不明なところはまだ多い。本研究では、コメットアッセイ法を用い、H_2O_2 またブレオマイシン（放射線類似作用を持つ変異原物質）により誘発した白血球のサブセット間の DNA 損傷量の差を評価することにより、有効な生物監視マーカーを探索することを目的とした。

【方法及び成績】

細胞分離：三名のドナーの静脈血液を 10 ml 採集し、遠心分離により単核白血球を取り出し、更に蛍光抗体法（FACS Vantage SE システム）を用い、$CD4^+$ T 細胞、$CD8^+$ T 細胞、B 細胞、NK 細胞及び単球を分離した。DNA 損傷測定：分離された白血球のサブセットをそれぞれ、5、10、20、50 μM の H_2O_2 PBS で 4℃、10 分間（H_2O_2 処理グループ）、あるいは、0.05、0.1、0.2 μg/ml のブレオマイシン PBS で 37℃、30 分間（ブレオマイシン処理グループ）処理した。DNA 損傷量はコメットアッセイ法により測定した。その結果、変異原 H_2O_2 により誘発した $CD4^+$ T 細胞、$CD8^+$ T 細胞、B 細胞、NK 細胞及び単球間の DNA 損傷量に有意差が見られた。H_2O_2 により誘発した DNA 損傷量の順は、$CD8^+$ T 細胞＞$CD4^+$ T 細胞＞NK 細胞＞B 細胞＞単球となった。しかしながら、コントロールグループの $CD4^+$ T 細胞と $CD8^+$ T 細胞の DNA 損傷量は他のサブセット細胞より有意に高かったので、各細胞の DNA 損傷比率（変異原により誘発した DNA 損傷量の測定値をコントロール細胞の DNA 損傷量の測定値で割る）を用い、白血球のサブセットの H_2O_2、またはブレオマイシンに対する感受性を評価した。H_2O_2 に対する NK 細胞の感受性は $CD4^+$ T 細胞、$CD8^+$ T 細胞及び単球細胞より高く、B 細胞の感受性は H_2O_2 の濃度と共に変化することが分かった。また、単球は最も高抗酸化能を有することを示した。一方、ブレオマイシンにより誘発した白血球のサブセット間の DNA 損傷量に有意差も見られた。 ブレオマイシンに対する B 細胞の感受性は最も高く、 単球の感受性は

$CD4^+$ T 細胞及び $CD8^+$ T 細胞より有意に高かった。

【総括】

ヒト末梢血白血球のサブセットの $CD4^+$ T 細胞、$CD8^+$ T 細胞、B 細胞、NK 細胞と単球は変異原物質の H_2O_2 及びブレオマイシンに対する感受性が違うことを明らかになった。末梢白血球のサブセット間の DNA 損傷量の差は環境変異原物質の暴露における DNA 損傷の生物監視に与える影響を考慮するべきである。

論文審査の結果の要旨

環境変異原物質が生体に及ぼす影響の評価は、既存の手法では、末梢血中の白血球またはリンパ球を用いて行っている。今までの研究では、環境変異原物質により誘発された白血球サブセット間の DNA 損傷量の差を姉妹染色分体交換法、小核法、単細胞ゲル泳動法（コメット　アッセい）などの方法で検討しているが、不明な点はまだ多い。本論文では、コメット　アッセい法を用いて、H_2O_2 またブレオマイシン（放射線類似作用を持つ変異原物質）により誘発した白血球サブセット間の DNA 損傷量の差を評価し、$CD4^+$ T 細胞、$CD8^+$ T 細胞、B 細胞、NK 細胞及び単球は、H_2O_2 またはブレオマイシンに対する感受性が異なることを報告している。このことより、環境変異原物質の生体影響の評価には、白血球サブセット間に DNA 損傷量の差があることを勘案することが重要な意味を持つことが判明した。よって、本業績は、学位論文に値するものであると考えられる。