

# 学位論文審査結果の要旨

所 属	三重大学大学院医学系研究科 甲 生命医科学専攻 基礎医学系講座 環境分子医学分野	氏 名	平生 祐一郎 ひらお ゆういちろう
審 査 委 員	主 査 新堂 晃大 副 査 成田 正明 副 査 今中 恭子		

(学位論文審査結果の要旨)

Myricetin causes site-specific DNA damage via reactive oxygen species generation by redox interactions with copper ions

【主論文審査結果の要旨】

著者らは論文において下記の内容を述べている。

Myricetin (MYR), found in tea and berries, may have preventive effects on diseases, including Alzheimer's disease and cancer. However, MYR is also a mutagen, inducing DNA damage in the presence of metal ions. We have studied the molecular mechanisms of DNA damage by MYR in the presence of Cu(II) (MYR+Cu). Using <sup>32</sup>P-5'-end-labeled DNA fragments, we analyzed site-specific DNA damage caused by MYR+Cu. MYR+Cu caused concentration-dependent DNA strand breaks and base alterations, leading to cleavage of DNA at thymine, cytosine, and guanine nucleotides. Formation of the oxidative DNA damage indicator, 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine (8-oxodG), in calf thymus DNA was increased by MYR+Cu. The production of 8-oxodG in MYR-treated HL-60 cells was significantly higher than in HP100 cells, which are more resistant to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> than are HL-60 cells. Reactive oxygen species (ROS) scavengers were used to elucidate the mechanism of DNA damage. DNA damage was not inhibited by typical free hydroxyl radical (·OH) scavengers such as ethanol, mannitol, or sodium formate. However, methional, catalase, and bathocuproine inhibited DNA damage induced by MYR+Cu. These results suggest that H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Cu(I), and ROS other than ·OH are involved in MYR+Cu-induced DNA damage. We conclude that the Cu(I)/Cu(II) redox cycle

and concomitant  $\text{H}_2\text{O}_2$  production via autooxidation of MYR generate a complex of  $\text{H}_2\text{O}_2$  and  $\text{Cu(I)}$ , probably  $\text{Cu(I)}\cdot\text{hydroperoxide}$ , which induces oxidative DNA damage.

ミリセチンはお茶やベリーに含まれており、アルツハイマー病やがん予防に期待されている。一方、金属イオン存在下でDNA損傷を引き起こすとの報告もあるが、その機構の詳細については不明である。本研究では、2価の銅イオン存在下におけるミリセチンのDNA損傷機構を解析した。 $^{32}\text{P}$ で標識したヒトがん関連遺伝子を用いて、ミリセチンのDNA損傷性とその塩基特異性を検討した。また、ミリセチンで処理したヒト培養細胞における8-oxodG生成量を測定し、酸化的DNA損傷についても評価した。その結果、ミリセチンは2価の銅イオン存在下でDNA鎖の切断に加えて、塩基損傷も濃度依存的に引き起こし、主にチミンで損傷が認められた。また、その損傷は過酸化水素分解酵素と1価の銅イオン捕捉剤により抑制された。さらに、ヒト前骨髄球形白血病細胞HL-60における8-oxodGの生成量は、HP100細胞（HL-60の過酸化水素耐性株）の生成量と比較し有意に多かった。以上より、2価の銅イオン存在下においてミリセチンは、過酸化水素と1価の銅イオンの生成を介した活性酸素種を生成し、酸化的DNA 損傷を引き起こす機構を示した論文であり、学術上極めて有益であり、学位論文として価値あるものと認めた。

Mutation Research – Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis  
2023 ; 891 : 503694

Published : September 18, 2023

doi : 10.1016/j.mrgentox.2023.503694

Yuichiro Hirao, Hatasu Kobayashi, Yurie Mori, Shinya Kato, Shosuke Kawanishi, Mariko Murata, Shinji Oikawa