

本稿は1998年5月29日、東京のヤクルトホールで開催された日本環境変異原学会主催の第9回公開シンポジウム「モデルDNA損傷と変異機構」(企画:根岸和雄, 早津彦哉)で発表された(座長:能美健彦)。

## DNA 損傷における塩基配列特異性とその意義

及川 伸二, 川西 正祐

三重大学医学部衛生学教室 〒514-8507 三重県津市江戸橋2-174

### Role of sequence-specificity of DNA damage

Shinji Oikawa and Shosuke Kawanishi

Department of Hygiene, Mie University School of Medicine  
2-174, Edobashi, Tsu, Mie 514-8507, Japan

### Summary

It is well known that various kinds of active oxygen and other radical species, alkylating agents and UV can induce site-specific DNA damage. Sequence-specificity of DNA damage is determined by oxidation potential of radical species, DNA recognition of alkylating agents, ionization potential and molecular electrostatic potential of DNA. Cells have repair mechanisms that correct such site-specific DNA damage. However, when these defenses are oversaturated, such as under conditions of highly oxidative stress, the DNA damage has an increased miscoding potential. In this paper, we review mechanisms of the site-specific DNA damage and its association with the carcinogenicity process and with the carcinostatic effect.

(This paper, chaired by Takehiko Nohmi, was presented to the 9th JEMS Annual Symposium, "Synthetic Models for DNA Damage and Mutagenesis", organized by Kazuo Negishi and Hikoya Hayatsu, sponsored by the Environmental Mutagen Society of Japan, and held at Yakult Hall, Tokyo, May, 29, 1998.)

**Keywords:** oxygen radical, UV, alkylating agent, DNA damage, sequence-specificity

### 緒 言

生体の組織の正常細胞は細胞周期が制御されており、細胞は個体の成長や維持に合致する増殖を続けている。しかし、無制御の増殖(uncontrolled growth)を繰り返す、他の組織へ侵襲や転移する細胞集団があり、これが悪性腫瘍すなわち“がん”である。細胞ががん化する過程には多くのステップがあり、重要な要因のひとつにDNAの損傷がある。DNA損傷をもたらす主要な原因は放射線や紫外線等の物理的因子、環境化学物質等の化学的因子およびウイルス等の生物的因子と考えられている。特に環境化学物質、食物、紫外線、放射線などの化

学的因子や物理的因子によるDNA損傷において活性酸素は重要な役割を果たしている。また最近、慢性的な感染や炎症による発がん、NOおよび活性酸素の関与が疑われている。われわれがこれまでに明らかにしてきたDNA損傷の塩基配列特異性を活性酸素や各種ラジカルによるDNA損傷、UVA照射による電子移動を介するDNA損傷およびアルキル化剤や抗がん剤によるDNA損傷について概説し、変異原、発がん、抗がん作用における意義を考察する。

われわれが確立したDNA損傷機構や損傷の塩基特異性の解析は、ヒトがん原遺伝子c-Ha-ras-1およびがん抑制遺伝子p53から変異のホットスポットを含む100~400 bpの断片をサブクローニングすることにより行った(Yamamoto and Kawanishi, 1991a; Yamashita et al., 1998)。DNA損傷の塩基配列特異性の解析にはMaxam-Gilbert法を応用し、オートラジオグラム

受付:1998年8月24日

受理:1998年9月2日

©日本環境変異原学会

**Table 1** Site specificity of DNA damage induced by various kinds of active oxygen and other radical species

Radical	Site-specificity of DNA damage
OH radical } ONOO <sup>-</sup>	G~T~C>A
N centered radical	G
SO <sub>4</sub> <sup>-</sup> radical	GG>G
RO radical	poly G

をレーザーデンストメーターで定量化し解析した。さらに、酸化 DNA 損傷のひとつである 8-oxo-7, 8-dihydro-2'-deoxyguanosine(8-oxodG)の定量は電気化学検出器付 HPLC を用いて行った。DNA 損傷の活性種をスピントラップ剤を用いて electoron spin resonance (ESR)法により解析した。

## 1. 活性酸素および各種ラジカルによる DNA 損傷の塩基配列特異性

生体内で生じる狭義の活性酸素にはスーパーオキシド(O<sub>2</sub><sup>-</sup>), 過酸化水素(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ヒドロキシルラジカル(・OH), 一重項酸素(<sup>1</sup>O<sub>2</sub>)がある。広義には有機化合物の酸素中心ラジカル(RO・, ROO・), 脂質過氧化物や金属酸素錯体, NO など含まれる。活性酸素による DNA 損傷には種々の機構が存在し, 損傷の塩基特異性もそれぞれ異なる。

O<sub>2</sub><sup>-</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ・OH は 3 重項酸素分子(O<sub>2</sub>)がそれぞれ 1, 2, 3 電子還元された分子であり, <sup>1</sup>O<sub>2</sub> は励起状態の酸素分子である。実質的に DNA を損傷する活性種は O<sub>2</sub><sup>-</sup> や H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ではなく, それらから金属イオン等の触媒作用によって生じる, より反応性に富む・OH, <sup>1</sup>O<sub>2</sub>, 金属酸素錯体等であると考えられる。Table 1 に示すように, ・OH は非常に大きな酸化還元電位を持っているので, ほとんどすべての塩基を損傷し多様な分解生成物を産生する。また糖-リン酸結合とも反応して DNA 鎖を切断する。塩基の主要な分解生成物としてアデニン(A)が損傷された 2-hydroxydeoxyadenosine(2-OH-dA), 8, 5'-cyclodeoxyadenosine(cyclo-dA), 8-hydroxydeoxyadenosine(8-OH-dA), シトシン(C)が酸化された 5-hydroxydeoxycytidine(5-OH-dC), グアニン(G)が損傷された 8-oxodG, 8,5'-cyclodeoxyguanosine(cyclo-dG), glyoxal-dG 付加物, チミン(T)が損傷されたチミングリコール, 尿素, 5-formyldeoxyuridine(5-CHO-dU)等が報告されている(Ide et al., 1993; Murata-Kamiya et al., 1997)。一方, <sup>1</sup>O<sub>2</sub> は G を特異的に損傷する(Kawanishi et al., 1986; Ito et al., 1993)。

NO は不対電子一つを持った反応性の高いフリーラジカルであり, 生理的に重要な役割を演ずる一方で, 感染

や炎症によって過剰に産生されると DNA 損傷などを引き起こし発がんをもたらす可能性が示唆されている(Liu and Hotchkiss, 1995)。NO は生理的条件下で酸化や還元を受けやすく, NO と O<sub>2</sub><sup>-</sup> の反応生成物であるパーオキシナイトライト(ONOO<sup>-</sup>)は NO より活性の強い二次的反応種である。ONOO<sup>-</sup> は, A, G, C, T, すべての塩基を損傷し, さらに, 子牛胸腺 DNA 中の 8-oxodG 生成量も増加させる(Inoue and Kawanishi, 1995)。また, これらの酸化的 DNA 損傷は・OH 捕捉剤で抑制されることから, DNA 損傷の活性種は非常に・OH に近い反応性を持つことが明らかになり, この活性種は NO と O<sub>2</sub><sup>-</sup> が反応して生成した ONOO<sup>-</sup> のある種の異性体か, または ONOO<sup>-</sup> の分解過程で生成したものと考えられる(Epe et al., 1996)。

一方, ヒドラジンラジカル等の窒素中心ラジカルは DNA の塩基配列中の G を特異的に損傷する(Yamamoto and Kawanishi, 1991 b)。硫酸ラジカルは単独の G よりも GG のような G の連続配列を強く損傷する(Kawanishi et al., 1989 a)。酸素中心ラジカル(RO・, ROO・)は 5'-GGG-3' のようなポリ G 配列中の 5' 側の G を損傷する(Tada-Oikawa et al., 1998)。各ラジカルの酸化還元電位は, 窒素中心ラジカル, 硫酸ラジカル, 酸素中心ラジカルの順に低くなると考えられる。また, 4 つの塩基(A, G, C, T)中 G の酸化電位が最も低く, 特に GG や GGG 等のポリ G 配列は容易に酸化されやすい(Sugiyama and Saito, 1996)。したがって, ラジカルの酸化還元電位が高ければ A, G, C, T, 4 つの塩基すべてが損傷されるが, 酸化還元電位が低くなるに従い酸化されやすい G が, さらに GG, GGG が特異的に損傷される。

金属酸素錯体では金属によって DNA との結合状態が異なるため, それぞれ特定の配列で DNA に損傷を与えられと考えられる。発がん性が指摘されているニッケル化合物やコバルトは H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> の存在下で金属酸素錯体を形成し DNA を塩基特異的に損傷する。ニッケル化合物の DNA 損傷の塩基配列特異性は C, T, G であり(Kawanishi et al., 1989 b), コバルトは G がやや強く損傷される(Yamamoto et al., 1989)。また, 変異原性は古くから認められているが発がん性は証明されていない銅も H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> の存在下で金属酸素錯体を生成し, DNA 配列中の T を, 特に 5'-GTC-3' の T を塩基特異的に損傷する(Oikawa and Kawanishi, 1998)。

## 2. UVA 照射による電子移動を介した塩基配列特異的 DNA 損傷

太陽紫外線がヒトに皮膚癌を引き起こすことはよく知られている。これまで紫外線による発がんに関与するのは UVB(280-320 nm)と考えられてきたが, UVA にも発がん性のあることが報告された(Setlow et al., 1993)。

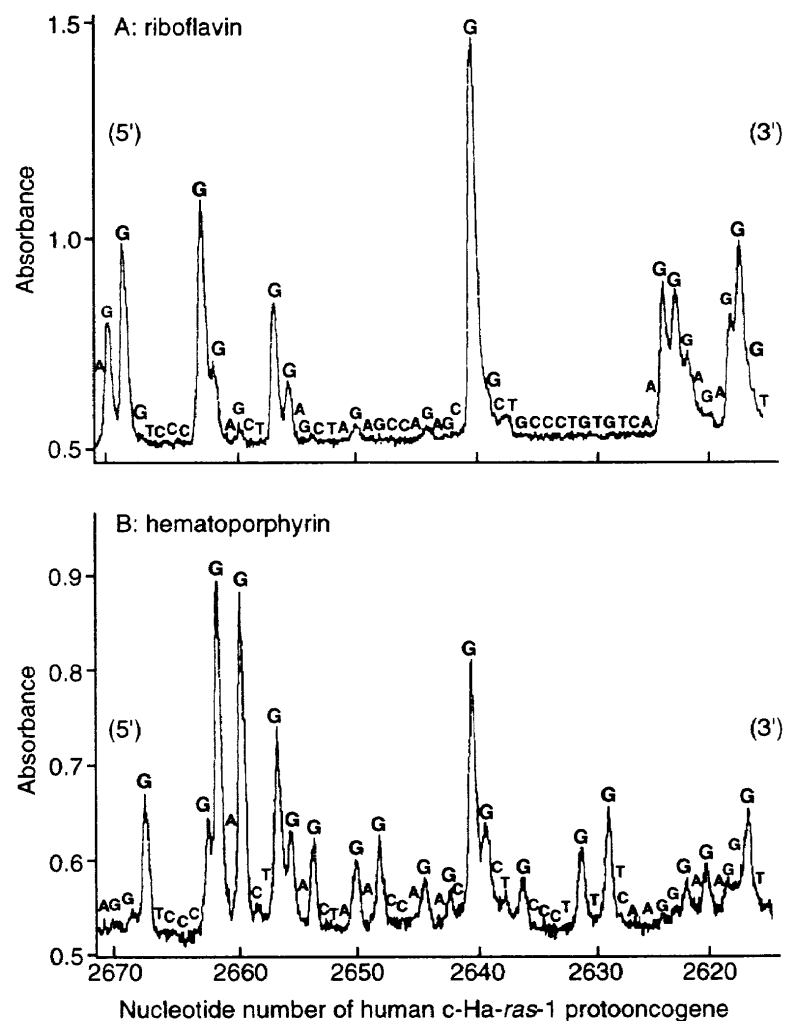


Fig. 1 Site-specificity of DNA cleavage induced by 365 nm irradiation in the presence of riboflavin or hematoporphyrin.

The  $^{32}\text{P}$  5' end-labeled 337 bp DNA fragment obtained from the c-Ha-ras-1 protooncogene was exposed to  $6.6 \text{ J/cm}^2$  UV light (365 nm) with 0.05 mM riboflavin (A) or 0.1 mM hematoporphyrin (B) in  $100 \mu\text{l}$  of 10 mM sodium phosphate buffer (pH 7.9) containing  $2 \mu\text{M}$ /base sonicated calf thymus DNA and  $5 \mu\text{M}$  DTPA.

IARC(International Agency for Research on Cancer)においてもUVAの発がん性はUVBと同程度の2A(ヒトに対して発がんの可能性が非常に高い)と評価している。UVAはDNAを直接損傷しないことから、生体内光増感分子を介した間接的なDNA損傷の可能性がある。生体内にはフラビン類、プテリン類やポルフィリン類などの光増感分子が多数存在する。したがって、これらの生体内分子が紫外線により励起されて生成する活性種が間接的にDNAを損傷すると考えられる。われわれはUVAによる発がん機構を解明するため、光増感分子存在下においてUVA照射によるDNA損傷の塩基配列特異性や損傷機構を検討した。

(1) リボフラビン(Ito et al., 1993)およびプテリン類(Ito, and Kawanishi, 1997 a):リボフラビン(riboflavin)やプテリン(pterin)存在下でUVA(365 nm)を

DNAに照射した結果、照射量依存的にDNAが損傷された。その塩基配列特異性は2本鎖DNAにおいてGが連続した配列(5'-GG-3')の5'側のGであり、G単独配列では損傷は認められなかった(Fig. 1 A)。また、酸化的DNA損傷のひとつである8-oxodG生成量が増加し、さらに8-oxodGはGにおける8-oxodG以外の損傷に比べて優勢に生成した。この8-oxodG生成は5'-GG-3'の5'側のGにおいて顕著に増加した。これらのことは2本鎖DNA中のGG連続配列の5'側のGが最も電子供与性であると報告されていることとよく一致する(Sugiyama and Saito, 1996)。したがって、UVA照射により励起されたりボフラビンやプテリンはDNA塩基の中で最も酸化されやすいGと電子移動を介して特異的に反応し、8-oxodG等の酸化的損傷を生ずることが示唆された。最近の研究は、長距離電子移動反応によって

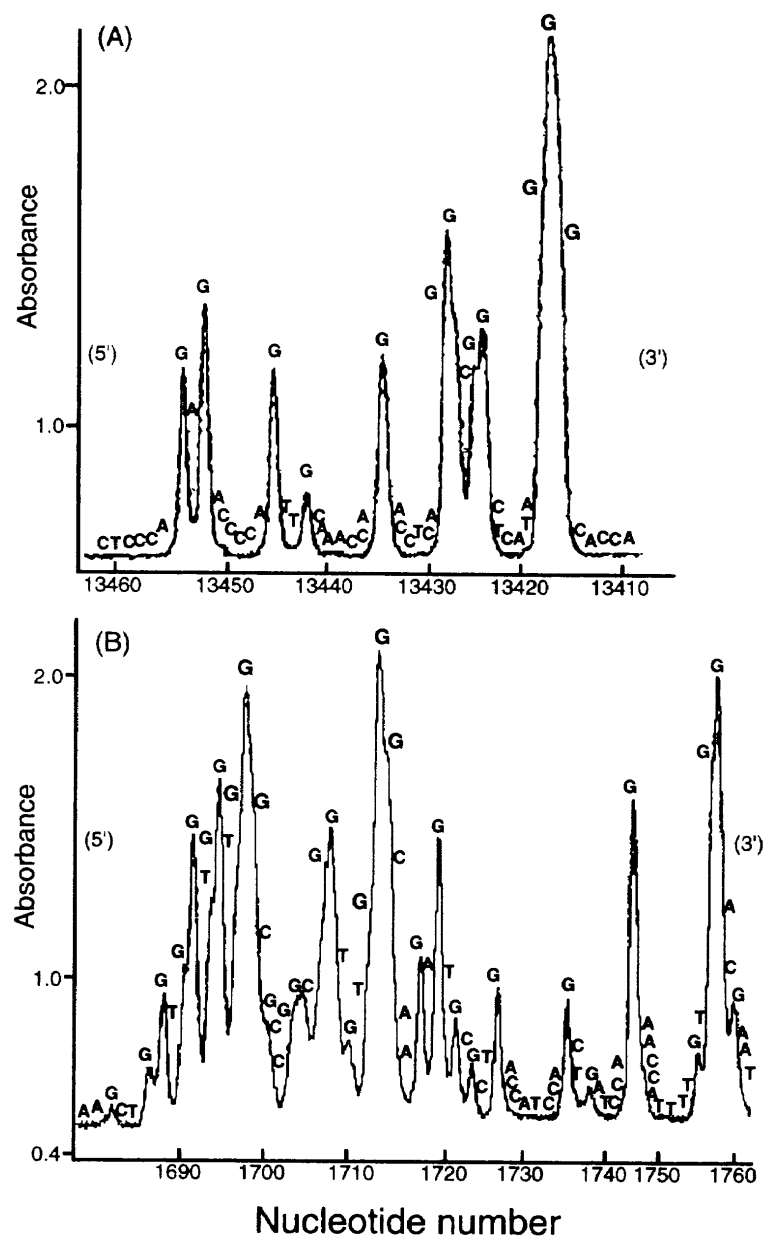


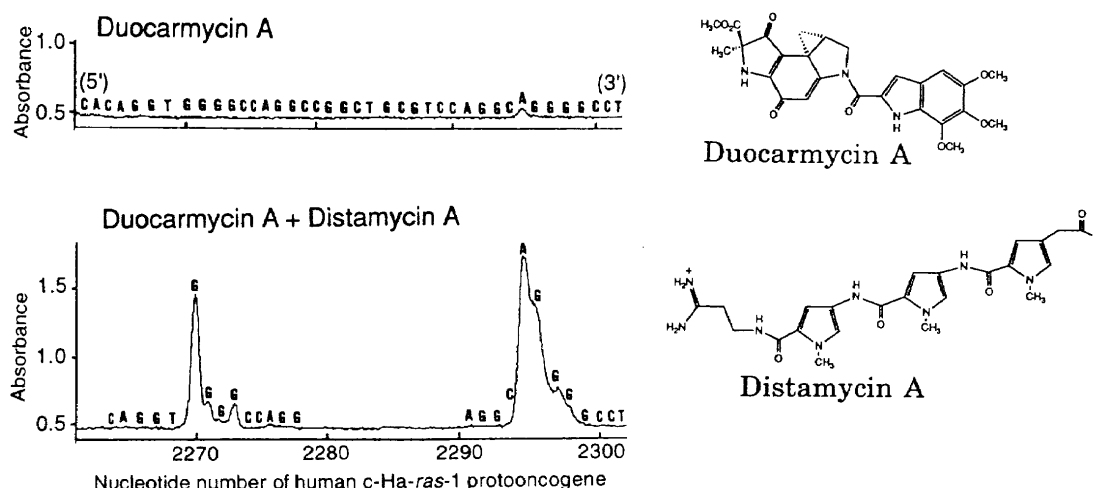
Fig. 2 Site-specificity of DNA cleavage induced by streptozotocin. The  $^{32}\text{P}$  5' end-labeled 348-bp DNA fragment obtained from the human *p53* tumor suppressor gene (A), or 261-bp fragment obtained from the *c-Ha-ras-1* protooncogene (B), was incubated with 0.5 mM STZ and 10  $\mu\text{M}$ /base of sonicated calf thymus DNA in 200  $\mu\text{l}$  of 10 mM sodium phosphate buffer (pH 7.8) containing 2.5  $\mu\text{M}$  DTPA.

光増感分子がGG連続配列から37 Åも離れたところでDNA分子と反応してもGG配列中に8-oxodGを生成することを報告している(Hall et al., 1996). したがって生体内においても、光増感分子はGGと直接的に反応する必要はなく、離れていても塩基配列特異的なDNA損傷が起こりうると考えられる。

(2) ポルフィリン類(Kawanishi et al., 1986): ポルフィリン代謝異常では、組織中にポルフィリンが沈着することにより光に対して皮膚が過敏になる。内在性ポルフィリン類のひとつであるヘマトポルフィリン(hematoporphyrin)の存在下でUVAを照射した結果、

1本鎖DNAにおいてGが特異的に損傷され(Fig. 1 B), また、8-oxodG量も増加した。ESRの結果等からこの損傷には $^1\text{O}_2$ の関与が示唆された。また、2本鎖DNAの損傷は認められなかった。

以上の結果から、UVAは生体内光増感分子存在下でDNAを損傷することが示唆された。このDNA損傷の塩基配列特異性は光増感分子の化学的性質に依存する。特に電子受容性の光増感分子は電子移動を介して間接的に5'-GG-3'配列の5'側Gを特異的に損傷することが認められた。



**Fig. 3** Alteration of site-specificity of duocarmycin A-induced cleavage of DNA fragment by distamycin A. The  $^{32}\text{P}$  5' end-labeled 98-bp DNA fragment obtained from the c-Ha-ras-1 protooncogene in 200  $\mu\text{l}$  of 10 mM sodium phosphate buffer (pH 7.9) containing 50  $\mu\text{M}$ /base of sonicated calf thymus DNA was incubated 37°C for 5 min in the presence of 10  $\mu\text{M}$  distamycin A. Then 5  $\mu\text{M}$  duocarmycin A was added, and the reaction mixture was incubated at 20°C for 60 min.

### 3. アルキル化剤や抗がん剤による塩基配列特異的 DNA 損傷

アルキル化剤のストレプトゾトシン (streptozotocin, STZ) は、膵臓ランゲルハンス島  $\beta$  細胞の DNA を損傷し、最終的に糖尿病発症にいたると考えられている。STZ は単離 DNA を損傷し、また培養細胞においても DNA 損傷、さらにアポトーシスを誘導した (Murata et al., 1998)。STZ による DNA のメチル化には塩基配列特異性があり、5'-GGG-3' 配列の中央の G あるいは 5'-GG-3' の 3' 側の G が強く損傷された (Fig. 2)。これらの DNA 損傷やアポトーシスが塩化ナトリウムや酢酸ナトリウム等により抑制されることから、活性種として  $\text{CH}_3^+$  の関与が示唆された。また、メチルニトロソ尿素は DNA の G をメチル化するが、特に 5'-GGG-3' の中央の G をメチル化しやすい。これらの塩基配列特異性は損傷される部位の分子静電位 (molecular electrostatic potential) によって説明される。

がんの化学療法に用いられる抗がん剤による DNA の塩基特異的分子認識の研究も重要である。新規抗癌性抗生物質であるデュオカルマイシン A (duocarmycin A) は 2 本鎖 DNA において、A または T が 3 つ以上連続している配列の中で最も 3' 末端に近い A の窒素 (N3) を活性なシクロプロパン環で塩基配列特異的にアルキル化する。また、ブレオマイシン (bleomycin) は DNA 分子の 5'-GC-3' および 5'-GT-3' 配列をピチアゾール基で認識し、キレートした 2 価の鉄が酸素分子を活性化し、デオキシリボースの部分で DNA 切断を起こす (アンダーラインは切断される部位) (Yamamoto and Kawanishi, 1992)。ネオカルチノスタチン (neocarzinostatin) は

DNA のマイナーグループ (溝) を認識し、さらにクロモフォアのエンジン構造がグルタチオン等の SH 化合物により活性化され、水素引き抜きにより DNA 分子の相補対の 5'-AGC-3'・3'-TCG-5' を塩基配列特異的に切断する (Hiraku and Kawanishi, 1997)。このように、抗がん剤は DNA の特定の塩基配列を認識し、アルキル化や DNA 切断等により DNA を損傷し、DNA 複製阻害や突然変異を導入することによりがん化した細胞を死滅させる。しかし、抗がん剤を長期間、多量に投与すると重篤な副作用や薬剤耐性が現れる。抗がん剤の DNA 切断活性を DNA 結合試薬と共存させることにより増強させ副作用を低減することが可能である。われわれは多数の DNA 結合試薬について抗がん剤の DNA 切断活性増強効果および DNA 切断の塩基特異性の変化について検討を行った。デュオカルマイシン A は、A・T 塩基対の連続配列の A をアルキル化するが、G・C 塩基対に富む部位でのアルキル化は認められない。しかし、デュオカルマイシン A に DNA 結合試薬であるディスタマイシン A (distamycin A) を共存させると、G・C 塩基対が 3-4 塩基連続して配列する部位でアルキル化の顕著な増大が認められた (Fig. 3) (Yamamoto et al., 1993)。この DNA 損傷の塩基特異性の変化は、ディスタマイシン A 単独では A あるいは T の連続配列による溝の幅が狭いマイナーグループを認識しアルキル化するが、ディスタマイシン A と共存したときには G あるいは C の連続配列部位の幅が広いマイナーグループを認識しアルキル化すると考えられる。すなわち、デュオカルマイシン A とディスタマイシン A が共存すると DNA の G あるいは C 連続配列の部位で 3 重錯体が形成され、その結果 G あるいは C 連続配列部位がアルキル化されると推定される。さら

に、われわれは抗がん剤ブレオマイシンの DNA 結合試薬による増強作用についても検討を行った。3つのピロール環(Py)から構成されている DNA 結合試薬 PyPyPy はブレオマイシンの一種であるペプロマイシンによる DNA 切断の塩基特異性を変化させ、G が 4 つ連続した配列の 3' 側に隣接した C (5'-GGGGC-3') を特異的に切断した。以上の結果から、DNA 結合試薬は抗がん剤の塩基特異的分子認識を変化させ、さらに DNA 切断活性を増強することが示唆された。

#### 4. DNA 損傷における塩基配列特異性の意義

化学発がんはイニシエーション、プロモーション、プログレッションの各段階を経て長時間かけて進行する。イニシエーションは正常細胞の DNA が塩基配列特異的な損傷を受け、修復や複製時の誤りにより突然変異が導入され潜在的ながん細胞が生じる不可逆的な過程である。活性酸素や各種ラジカルは多様な DNA 損傷を誘発する。酸化還元電位の非常に高い $\cdot\text{OH}$  はすべての塩基を酸化し、酸化還元電位の低い窒素中心ラジカル、硫酸ラジカル、酸素中心ラジカルは比較的酸化されやすい G、特に GG, GGG 配列中の G の 8 位を酸化し 8-oxodG を生成する。DNA 損傷から突然変異さらには発がんにいたるプロセスにはいまだ不明な部分が多いが、突然変異が起きるには少なくともホットスポット等の DNA の特定の部位が損傷されることが必要である。したがって、DNA のどの部分に塩基配列特異的な損傷が引き起こされるかについて解析を行うことは発がん機構を解明するうえで非常に重要である。

紫外線による塩基配列特異的 DNA 損傷については、UVB による DNA の直接的な損傷として、ピリミジン光産物が同定されている (Davies, 1995)。さらにわれわれは発がん性を示す UVA と生体内光増感物質(リボフラビン, プテリン類)による電子移動を介した DNA 損傷機構を解析した結果、二本鎖 DNA において 5'-GG-3' 配列の 5' 側の G が損傷され、その G の酸化生成物には 8-oxodG が含まれることを報告した (Ito and Kawanishi, 1997 b)。この光励起電子移動による塩基配列特異的な 8-oxodG の生成は電子受容性の光増感分子に共通した機構である。渋谷ら (Shibutani et al., 1991) は 8-oxodG 生成による突然変異のスペクトルとして G $\rightarrow$ T のトランスバージョンを報告している。したがって、ヒト皮膚腫瘍での *ras* 遺伝子の変異のうち GG $\rightarrow$ TG の変異はこれまで相補対の CC でのピリミジン光産物の生成によるとされてきたが、われわれは 5'-GG-3' 配列の 5' 側の G に生成した 8-oxodG による GG $\rightarrow$ TG のトランスバージョンの可能性も十分にありうると考えている。

がん関連遺伝子の中で重要な役割を果たしている遺伝子にがん抑制遺伝子 *p53* がある。この遺伝子の変異は肺癌、大腸癌、乳癌、膀胱癌等ほとんどのがんで高頻度で

認められ、ホットスポットにおける突然変異の研究も数多くなされている (Saito et al., 1996)。これらの研究を検討した結果、肺癌組織の *p53* 遺伝子変異は G $\rightarrow$ T トランスバージョンが変異全体の 1/3 を占め、そのうち約 60% に酸化されやすい GG 連続配列における G に点突然変異が認められた。したがって、DNA 損傷における塩基配列特異性は *p53* をはじめとする各種がん関連遺伝子の突然変異の導入に深く関与していると考えられる。

アルキル化剤や抗がん剤による DNA 認識は DNA 損傷の塩基配列特異性を決定するうえで重要である。ストレプトゾトシンやメチルニトロソ尿素は塩基配列特異的に 5'-GGG-3' 配列の中央の G あるいは 5'-GG-3' の 3' 側の G をメチル化する。このことは損傷される部位の分子静電位 (molecular electrostatic potential) によると考えられる。また、がんの化学療法に用いられる抗がん剤の多くは DNA を作用部位とするので、抗がん剤による DNA の塩基特異的分子認識の研究も非常に重要である。われわれは種々の抗がん剤と DNA との反応を分子生物学的手法と有機化学的手法を駆使して分子レベルで解析し、抗がん剤による DNA 切断やアルキル化には塩基配列特異的な分子認識が重要な役割を果たしていることを解明してきた。さらに、われわれは DNA の分子認識による抗がん剤の塩基配列特異的切断が DNA 結合試薬と共存することにより変化する可能性を検討した。その結果、二つの相異なる分子が協奏的に DNA の塩基配列特異性を認識する反応を初めて見出し、“協奏的 DNA 認識 (Concerted DNA recognition)” という新しい概念を提唱した (Yamamoto et al., 1993)。これは新しいがん化学療法の分子論的基礎になりうると考えられ、新しい効果的ながん化学療法を可能にすると考えられる。

また、加齢とともに活性酸素、放射線や太陽紫外線などの酸化的ストレスにより DNA や蛋白質の損傷が蓄積され老化が進行するとの仮説が提唱されている。最近、染色体の末端部に存在するテロメア繰り返し配列 (TTAGGG) $_n$  の切断が老化のプログラムに関与しているとの報告がなされた。われわれはこのテロメア繰り返し配列中の GGG 配列が酸化的ストレスによって塩基配列特異的に損傷されることを明らかにした。

以上をまとめると DNA 損傷における塩基配列特異性を決定する因子としては、各種ラジカルの酸化還元電位で示される酸化力、アルキル化剤の DNA 認識、塩基やジヌクレオチドまたはトリヌクレオチドのイオン化ポテンシャル (酸化還元電位) や分子静電位 (molecular electrostatic potential) などが考えられる。したがってこれらの因子が DNA の塩基配列特異的損傷として発がん過程のイニシエーションやプロモーション作用、また抗がん効果等にどのように影響を及ぼすか、今後さらなる研究が必要である。

## 参考文献

- Davies, R. J. H. (1995) Ultraviolet radiation damage in DNA, *Biochem. Soc. Trans.*, 23, 407-418.
- Epe, B., D. Ballmaier, I. Roussyn, K. Briviba and H. Sies (1996) DNA damage by peroxynitrite characterized with DNA repair enzymes, *Nucleic Acids Res.*, 24, 4105-4110.
- Hall, D. B., R. E. Holmlin and J. K. Barton (1996) Oxidative DNA damage through long-range electron transfer, *Nature*, 382, 731-735.
- Hiraku, Y. and S. Kawanishi (1997) Actinomycin D amplifies site-specific DNA cleavage induced by neocarzinostatin, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 239, 134-138.
- Ide, H., K. Akamatsu, Y. Kimura, K. Michiue, K. Makino, A. Asaeda, Y. Takamori and K. Kubo (1993) Synthesis and damage specificity of a novel probe for the detection of abasic sites in DNA, *Biochemistry*, 32, 8276-8283.
- Inoue, S. and S. Kawanishi (1995) Oxidative DNA damage induced by simultaneous generation of nitric oxide and superoxide, *FEBS Lett.*, 371, 86-88.
- Ito, K., S. Inoue, K. Yamamoto and S. Kawanishi (1993) 8-Hydroxydeoxyguanosine formation at the 5' site of 5'-GG-3' sequences in double-stranded DNA by UV radiation with riboflavin, *J. Biol. Chem.*, 268, 13221-13227.
- Ito, K. and S. Kawanishi (1997a) Photoinduced hydroxylation of deoxyguanosine in DNA by pterins : sequence specificity and mechanism, *Biochemistry*, 36, 1774-1781.
- Ito, K. and S. Kawanishi (1997b) Site-specific DNA damage induced by UVA radiation in the presence of endogenous photosensitizer, *Biol. Chem.*, 378, 1307-1312.
- Kawanishi, S., S. Inoue, S. Sano and H. Aiba (1986) Photodynamic guanine modification by hematoporphyrin is specific for single-stranded DNA with singlet oxygen as a mediator, *J. Biol. Chem.*, 261, 6090-6095.
- Kawanishi, S., K. Yamamoto and S. Inoue (1989a) Site-specific DNA damage induced by sulfite in the presence of cobalt(II) ion. Role of sulfate radical, *Biochem. Pharmacol.*, 38, 3491-3496.
- Kawanishi, S., S. Inoue and K. Yamamoto (1989b) Site-specific DNA damage induced by nickel (II) ion in the presence of hydrogen peroxide, *Carcinogenesis*, 10, 2231-2235.
- Liu, R. H. and J. H. Hotchkiss (1995) Potential genotoxicity of chronically elevated nitric oxide : a review, *Mutat. Res.*, 339, 73-89.
- Murata, M., A. Takahashi, I. Saito and S. Kawanishi (1998) Site-specific DNA methylation and apoptosis induced by diabetogenic streptozotocin, *Biochemical Pharmacology*, in press.
- Murata-Kamiya, N., H. Kamiya, M. Muraoka, H. Kaji and H. Kasai (1997) Comparison of oxidation products from DNA components by gamma-irradiation and Fenton-type reactions, *J. Radiation Res.*, 38, 121-131.
- Oikawa, S. and S. Kawanishi (1998) Distinct Mechanisms of Site-specific DNA Damage Induced by Endogenous Reductants in the Presence of Iron (III) and Copper(II), *Biochem. Biophys. Acta*, in press.
- Saito, M., S. Takahashi, Y. Uesaka and K. Enomoto (1996) p53 gene mutations in the human lung carcinoma, *Nippon Rinsho-Japanese Journal of Clinical Medicine*, 54, 497-502.
- Setlow, R. B., E. Grist, K. Thompson and A. D. Woodhead (1993) Wavelengths effective in induction of malignant melanoma, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90, 6666-6670.
- Shibutani, S., M. Takeshata and A.P. Grollman (1991) Insertion of specific bases during DNA synthesis past the oxidation-damaged base 8-oxodG, *Nature*, 349, 431-434.
- Sugiyama, H. and I. Saito (1996) Theoretical studies of GG-specific photocleavage of DNA via electron transfer : significant lowering of ionization potential and 5'-localization of HOMO of stacked GG bases in B-form DNA, *J. Am. Chem. Soc.*, 118, 7063-7068.
- Tada-Oikawa, S., S. Oikawa and S. Kawanishi (1998) Oxidative DNA damage and apoptosis induced by metabolites of butylated hydroxytoluene, *Biochem. Pharmacol.*, 56, 361-370.
- Yamamoto, K., S. Inoue, A. Yamazaki, T. Yoshinaga and S. Kawanishi (1989) Site-specific DNA damage induced by cobalt (II) ion and hydrogen peroxide : role of singlet oxygen, *Chem. Res. Toxicol.*, 2, 234-239.
- Yamamoto, K. and S. Kawanishi (1991a) Site-specific DNA damage induced by hydrazine in the presence of manganese and copper ions : The role of hydroxyl radical and hydrogen atom, *J. Biol. Chem.*, 266, 1509-1515.
- Yamamoto, K. and S. Kawanishi (1991b) Free radical production and site-specific DNA damage induced by hydrazine in the presence of metal ions or peroxidase/hydrogen peroxide, *Biochem. Pharmacol.*, 41, 905-914.
- Yamamoto, K. and S. Kawanishi (1992) Enhancement and alteration of bleomycin-catalyzed site specific DNA cleavage by distamycin A and some minor groove binders, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 183, 292-299.
- Yamamoto, K., H. Sugiyama and S. Kawanishi (1993) Concerted DNA recognition and novel site-specific alkylation by duocarmycin A with distamycin A, *Biochemistry*, 32, 1059-1066.
- Yamashita, N., M. Murata, S. Inoue, Y. Hiraku, T. Yoshinaga and S. Kawanishi (1998) Superoxide formation and DNA damage induced by a fragrant furanone in the presence of copper(II), *Mutat. Res.*, 397, 191-201.