

放生研ニュース

No. 136

September 30, 2011

# Newsletter

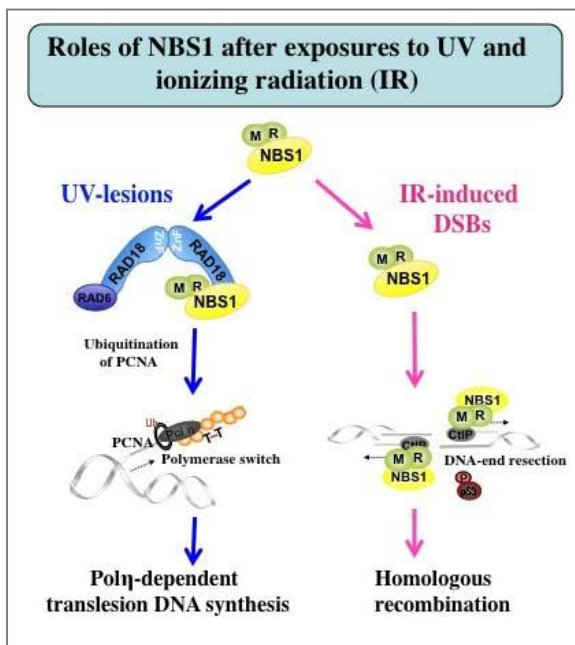
Radiation Biology Center Kyoto University

## 目次

平成 23 年度下半期及び通年共同利用研究の採択	2
平成 23 年度第 1 回協議員・運営委員会議事要旨	2
放生研重点領域研究に関するワークショップの開催	3
第 27 回 RBC-NIRS 国際シンポジウムのお知らせ	3
第 6 回京都大学附置研究所・センターシンポジウム報告	4
第 35 回放射線生物研究連絡会議総会のお知らせ	4
放生研の研究活動紹介 (NBS1 による TLS の開始)	4
留学報告・共同利用研究の紹介 (NIH Bonner 研究室)	6
琵琶湖勉強会印象記	9
大会印象記(第 17 回国際癌治療増感研究会)	11
大会印象記(14 <sup>th</sup> International Congress of Radiation Research (ICRR))	13
放生研日誌	15



DNA らせん方向と同じ？違う？



第 27 回放生研国際シンポジウム  
12 月 9 日(金)、10 日(土) 参加受付中 (3 ページ)

Yanagihara, Molecular Cell, 2011 (4 ページ)

**【平成 23 年度下半期共同利用研究の採択】**

番 号	研 究 課 題	氏 名	研究 者数	所 属
32	Mcm8-9 複合体の DNA 架橋修復における機能解析	鐘巻 将人	2	国立遺伝学研究所 准教授
33	放射線照射による残存型 DNA 損傷部位の同定	中村 麻子	1	大阪医科大学・講師

**【平成 23 年度上半期・通年共同利用研究の追加採択】**

番 号	研 究 課 題	氏 名	研究 者数	所 属
34	ガンマ線によるチェックポイントタンパク質のリン酸化修飾変動の解析	近藤 祥司	3	京大・医・助教

**【平成 23 年度第 1 回協議員・運営委員会議事要旨】**

日時：平成 23 年 8 月 24 日（水）14：00～15：40

場所：吉田泉殿 セミナー室

出席者：協議員・運営委員 15 名、オブザーバー 2 名、事務職員 2 名

1. 前回議事録について

センター長から、前回の議事録について説明が行われ、承認された。

2. 報告事項

(1) 23 年度放生研各種委員について

センター長から、平成 23 年度におけるセンターの各種委員等について報告が行われた。

(2) 第 27 回放生研国際シンポジウムについて

井倉准教授から、今年度の放生研国際シンポジウムが 12 月 9 日、10 日の 2 日間、コープ・イン・京都で開催される旨の報告が行われた。

また、センター長から、シンポジウムは放医研との連携であること、補助金の支援があったとの追加報告が行われた。

(3) 全学経費について

センター長から、放医研との連携で、放射線生物学を学んだことのない学部学生を対象に、研修会を行うことで約 70 万円の経費が認められたとの報告が行われた。

また、当初、予定していた開催日が、放医研の節電休暇と重なったため、12 月 26 日～28 日（予定）に延期になったこと。研修会は、今後、数年間続けて、評価を行いたい旨の報告が行われた。

(4) 第 4 回琵琶湖勉強会について

センター長から、7 月 29 日～31 日に開催された琵琶湖勉強会について報告が行われた。

また、参加者 28 名の内、放生研の学生が 11 名と初めて過半数を切ったこと。本勉強会は、毎年、続けていきたい旨の報告が行われた。

### 3. 審議事項

#### (1) 平成 23 年度共同利用研究（下半期）の採択について

高田教授から、平成 23 年度下半期共同利用研究申請の 1 件である鐘巻准教授、西村研究員の受入について説明が行われ、審議の結果、承認された。

また小林准教授から、他の 1 件である中村講師の受入について説明が行われ、審議の結果、承認された。

### 4. その他

#### (1) 福島第一原発事故後の対応について

センター長および小松教授から、福島第一原発事故後に本センターが行った対応について報告が行われた。

つづいて、各出席者から、所属機関等が行った対応について意見交換が行われた。

## 【放生研重点領域研究に関するワークショップの開催】

日本放射線影響学会第 54 回大会において、放生研重点領域研究第二領域「低線量（率）放射線に対する生物応答」に関するワークショップを下記の通り開催いたします。多くの方々のご参加をお待ちしております。

タイトル 「生体組織に対する低線量（率）放射線影響の解明に向けて」

日時 2011 年 11 月 17 日（木）15 時～17 時

会場 日本放射線影響学会第 54 回大会 B 会場

座長 小林純也（京大・放生研）、杉原崇（環境科学技術研究所）

講演者 馬田 敏幸（産業医科大学）

「低線量率トリチウム  $\beta$  線の生体影響研究-動物レベルを中心に-

小笹 晃太郎（放射線影響研究所）

「原爆被爆者における低線量域での健康後影響」

笹谷 めぐみ（広大・原医研）

「放射線発がんゲノム不安定性」

杉原 崇（環境科学技術研究所）

「低線量率  $\gamma$  線連続照射マウスにおける放射線応答機構の解析」

富田 雅典（電力中央研究所）

「線量率効果における DNA2 重鎖切断修復機構の役割」

中島 徹夫（放射線医学総合研究所）

「放射線照射マウスにおけるタンパク質発現の線量・線量率依存的変化」

## 【第 27 回 RBC-NIRS 国際シンポジウムのお知らせ】

3 月号でもお知らせしましたように、平成 23 年 12 月 9 日（金）10 日（土）にコープ・イン・京都において、RBC-NIRS 国際シンポジウム「DNA 損傷応答シグナルにおけるクロマチン動態とエピジェネティック制御」を開催いたします。

シンポジウムへの参加は放生研ホームページの下記アドレスから参加申込書をダウンロードの上、お申し込み下さい。申込締切は 10 月 30 日（必着）です。ふるってご参加下さい。

シンポジウムホームページ <http://www.rbc.kyoto-u.ac.jp/sympo/27th/index.html>

## 【第6回京都大学附置研究所・センターシンポジウム報告】

東日本大震災のため、3月の北海道での開催が中止となった第6回京都大学附置研究所・センターシンポジウムが、大震災に関するスペシャルセッションをプログラム内容に追加した上で、平成23年7月3日に京都大学百周年時計台記念館（京都市）で開催されました。スペシャルセッション「東日本大震災を考える：地震・津波・放射線・心のケア・日本復興に向けて」の中では、放生研の小林純也准教授が「放射線、その人体影響と防護」のタイトルで講演を行いました。東日本大震災に関するスペシャルセッションに対する市民の関心も高く、200名以上の参加があり、各講演に対して活発な討論が行われました。



シンポジウム終了後には放生研ニューズレター増刊「長期汚染地域の住民のための放射線防護の実用的手引き」の配布も行い、多くの参加者が受け取られ、放射線人体影響への一般市民の関心の強さを感じさせるものでした。

## 【第35回放射線生物研究連絡会議総会のお知らせ】

日時 2011年11月18日（金）12時半頃

場所 神戸商工会議所会館

日本放射線影響学会第54回大会D会場

若手放射線生物学研究会総会に続いて開催されます。（文責：大西・小林）

## 【放生研の研究活動紹介】

NBS1によるRAD18の損傷部位への集積と損傷乗り越えDNA合成機構の制御

—掲載論文—

"NBS1 Recruits RAD18 via a RAD6-Like Motif and Regulates Pol  $\eta$ -dependent Translesion DNA Synthesis"

H. Yanagihara, J. Kobayashi, S. Tateishi, A. Kato, S. Matsuura, H. Tauchi, K. Yamada, J. Takezawa, K. Sugawara, C. Masutani, F. Hanaoka, C. M. Weemaes, T. Mori, L. Zou, K. Komatsu.

Molecular Cell, Volume 43, Issue 5, 2 September 2011, Pages 788-797

DNAは絶えず損傷を受けているため、生物は損傷が生じるとDNA修復、細胞周期チェックポイント及びDNA上に損傷を残したままDNA複製を続行する損傷乗り越えDNA合成(Translesion DNA Synthesis: TLS)機構により細胞を制御する。今回、DNA修復タンパク質NBS1がTLSの開始に重要な役割をもっていることが示され、NBS1の新しい機能を発見した。

ナイミーヘン染色体不安定症候群(Nijmegen breakage syndrome: NBS)は放射線高感受性、染色体不安定性、高発がん性を呈する遺伝病である。NBSの原因遺伝子NBS1は放射線照射後の細胞周期チェックポイントやDNA修復で機能する。NBS患者細胞は放射線その他、カンプトテシン、マイトマイシンC、アルカリ化剤、ヒドロキシウレアなどに感受性

を示すことが知られている。我々はNBS患者細胞及びNBS1欠損マウス細胞を用いて解析したところ、これらの感受性に加えて紫外線高感受性が確認された。さらに、siRNAを用いて解析したところ、NBS1ノックダウン細胞でも紫外線高感受性が確認され、NBS1の発現量依存的に感受性の増加がみられた。これらのことからNBS1タンパク質の発現量低下により紫外線感受性が亢進することが示された。次に細胞核の局所に紫外線損傷を誘発し、DNA損傷特異的抗体とNBS1抗体とで二重免疫染色した結果、損傷部位へのNBS1の集積を検出した。さらに紫外線照射後、特に複製期の細胞においてNBS1フォーカス形成が観察された。これらのことから紫外線照射により複製期に生じたDNA損傷応答に対するNBS1の

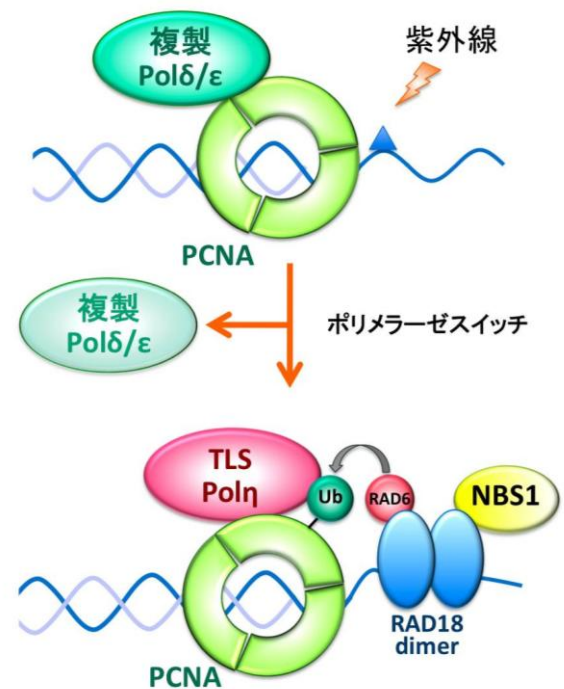
関与が示唆された。

NBS1 の紫外線損傷修復機構における機能を検討するために、NBS1 欠損マウス細胞を用いて実験を行った。紫外線照射後のヌクレオチド除去修復能に異常はみられなかった。しかし、複製後修復能を調べるため蔗糖密度勾配遠心法を用いて複製反応産物の伸長を測定したところ、NBS1 欠損マウス細胞では DNA 伸長がみられず、複製後修復能が欠如していることが示された。さらに、NBS1 欠損マウス細胞では RAD18 や Pol $\eta$  の核内フォーカス形成が抑制され、PCNA のユビキチン化の低下が確認された。同様の表現型は NBS1 ノックダウン細胞でもみられた。紫外線照射後 NBS1 ノックダウン細胞では Pol $\eta$  ノックダウン細胞と同程度の突然変異頻度の増加がみられた。これらの結果から NBS1 は RAD18 を紫外線損傷部位ヘリクルートすることにより、PCNA のモノユビキチン化を介した Pol $\eta$  による TLS に関与していることが明らかとなった。

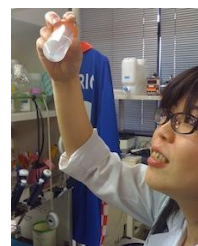
次に、NBS1 と RAD18 の相互作用を免疫沈降法を用いて検討した。その結果、大腸菌から精製した NBS1 と RAD18 組換えタンパク質同士が直接結合し、細胞内では特に紫外線照射後に核内での結合が観察された。NBS1 の RAD18 結合部位を同定した後、その結合部位を欠失させた変異体を作製したところ、RAD18 結合部位欠失細胞では、RAD18 及び Pol $\eta$  の核内フォーカス形成欠損を示し、PCNA のユビキチン化低下、紫外線高感受性が認められた。これらの結果から NBS1 と RAD18 の結合が TLS の開始に必要であることが示唆された。NBS1 の集積は RAD18 非依存的であることから、NBS1 が RAD18 の損傷部位への集積を制御していると考えられる。さらに、免疫沈降法を用いた解析の結果、NBS1 と RAD6 は RAD18 の同一領域に競合して結合することが示され、アミノ酸配列解析の結果 NBS1 及び RAD6 の各 RAD18 結合領域間で構造的な類似性を見いだした。RAD18 は二量体を形成していることが知られているため、NBS1-RAD18-RAD18-RAD6 複合体を形成し TLS に関与していることが示唆された。また、*in vitro* の実験で RAD6 ペプチドを過剰添加させた結果、NBS1 と RAD18 の結合が阻害された。このことから、

紫外線損傷修復初期では NBS1 は RAD18 の損傷部位への集積に必要であり、その後 PCNA のユビキチン化のため RAD6 と置換する可能性も考えられる。以上の結果より、NBS1 はチェックポイント制御や DNA 修復だけでなく、TLS の制御という新たな役割も担っていることを明らかにした。

共著者の方々を始め多くの方々のご協力によりこの論文を出すことができました。長期に渡り支えて下さった方々にこの場を借りてお礼申し上げます。



NBS1 により開始する TLS (モデル)



柳原 啓見  
京都大学放射線生物研究センター  
ゲノム動態研究部門 研究員

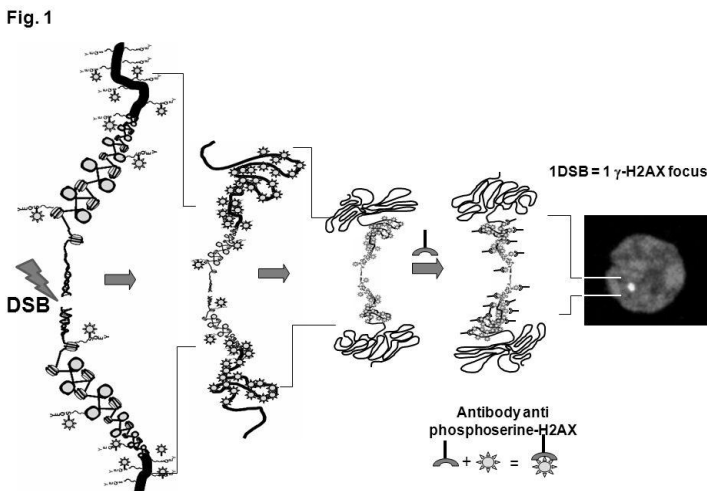


## 【留学報告・共同利用研究の紹介】

NIH Bonner 研究室における H2AX 研究と放生研共同利用研究としての展開

### National Institutes of Health という巨大な研究所の中で得られたもの

DNA double strand break (DSB) を可視化する方法として、いまやゴールドスタンダードとなりつつあるリン酸化型 H2AX の検出(Fig. 1)を実際に行ったことのある研究者はどのくらいいらっしゃるのでしょうか？ この H2AX のリン酸化は、1998 年にアメリカ NIH の William Bonner 研究室で初めて発見されました。ヒストンバリエーションの研究を長年行っていた Bonner グループが、ふと、DNA 損傷が発生した時にヒストンの修飾は起こるのだろうか？起こるとしたら、一体どのような修飾なのであるだろうか？そういった、今考えれば至極当たり前で、それでいて当時誰もが見落としていた点に注目したのです。二次元電気泳動でひたすらヒストン分子の修飾を検討すること数年(?)、初めてヒストン H2AX が放射線照射依存的にリン酸化されることが発見されました。この研究、もちろん最初はトップジャーナルに投稿しましたが全く相手にされず、The Journal of Biological Chemistry に発表されることになりました。Emmy Rogaku を筆頭著書として発表された論文[1]。一度は引用したことがあるのではないのでしょうか？この原稿を書いている今日、調べてみると、すでに 1700 回ほど論文引用されていました。



さて、前置きが長くなりましたが、私が 2004 年から 2011 年まで在籍していた研究室が、その William (Bill) Bonner 研究室です。NIH の Laboratory of Molecular Pharmacology (LMP) に所属する研究グループです。LMP は一つの大きな研究集団のようなもので、現在 7 人もの Principal Investigator (PI) が所属し、それぞれのグループが特徴的な仕事をしています。素晴らしいのは、この 7 つのグループが一つの部署の仲間として共同研究を積極的におこなっていることでしょう。いくつかのグループは同じビルでも階が違っていたりするのですが、基本的に LMP のメンバーほとんどが同じ大部屋におり、ちょっと気になることがあれば、すぐに別のグループのポストクのところに行って discussion ができるのです。あーしたらいいんじゃないか？いや、でも、こういう論文があったから、それはおかしい。じゃあ、こういうことが起こるんじゃないか？などなど..。ここで大切なのは、そうした discussion がお互いを respect した状況で行われるということでしょうか。研究者として相手の能力を認め、そして同じ研究目的をもって研究を行っているという連帯感が、非常によい効果をもたらしてくれていました。おかげで 7 年間の滞在中に知り合った研究者仲間は幅広い分野の研究者ばかりで、私自身刺激を受けましたし、実際に様々な共同研究をするチャンスにも恵まれました。非常に広い研究視野を持つことができたと思っています。Collaboration を上手に行うスタイルというのは、NIH に限らず海外ラボの最大のメリットかもしれません。

そのほかに NIH に滞在することで得られたものの一つが作文能力のレベルアップでしょう。ボスの性格や研究スタイルというのは、実際そのラボに配属されないとなかなか分からないものですが、意外と重要な要素です。 $\gamma$ -H2AX の生みの親とでもいう我がボス Bill ですが、実は非常に面倒くさがり屋で、多くの書類を後回しにするという悪い癖がありました。あまり言うと Bill のイメージに影響があります

からこのぐらいにしておきますが(笑)、そんな彼の悪い癖のおかげで、私たちポストドクは書類作業を任されることが多く、ずいぶんと作文能力が鍛えられました。そして、さすが NIH とでもいいでしょうか、NIH にはボランティアで英語論文を添削してくれるサービスがあります。NIH で働いているポストドクが自分の論文作成能力をアップさせるため、またレビュー能力を高めるために結成しているグループによるサービスで、NIH 研究員が投稿する論文に限るのですが、申請してから 3 営業日での添削を約束しています。そして、私にとって幸運だったのは、この論文査読グループの編集長が Bonner グループにポストドクとしていたことでしょう。彼女はレビュー能力に非常に長けており、文章構成や英語の基本的な文法なども非常にきれいに直してくれる素晴らしい英語の先生でもあったのです。彼女には、私の論文だけでなく、ちょっとした英語の書類、申請書など様々な英文をチェックしてもらいました。私の英文作成能力向上に役立ったのは間違いなく、本当に彼女には感謝しています。

NIH は世界一の規模ともいわれる生物学系研究所であり、毎年数多くの日本人研究者が留学してきます。そんな多くの日本人研究者の方々と知り合うにつれ、痛感したことがあります。それは、この先、海外への研究留学を考えている方へのアドバイスでもあるかもしれませんが、“日本語をしゃべってはいけません”(笑)。ラボのメンバーと積極的に英語で(あるいは、現地の言葉で)会話をし、「ああ、そういえば今日はずーっと英語ばかりで、日本語をしゃべってないな」という日を多く作っていただきたいのです。基本、日本人研究者は非常に丁寧な仕事をしますし、勤勉ですから、どこのラボに行っても重要な戦力になっているかと思うのですが、ラボのメンバーになりきれていない人をよく見かけました。そういった場合、その日本人の方が留学を終えて帰国した後、ラボメンバーの多くが、名前を覚えていないということになるのです。「えっと、名前は何だっけ?あの日本人の..」ということになってしまうのです。少しさびしいですね。会話をし、研究を含めたさまざまな知識や技術を交換し、そして共同

研究をするなどしてお互いの能力を高めていく。そういった大きな研究者の「正のサイクル」のようなものが大切なのだと NIH 滞在中に実感しました。



### Bonner 研究室で得られた研究結果

それでは NIH に滞在中に行った私の研究について少し紹介させていただきます。私が Bill のラボに入った当時、行き詰まっていた研究プロジェクトがありました。それは「老化に伴い増加する DNA 損傷は一体どこに発生しているのか?」という問いに対する研究です。今では、多くの人が細胞老化、あるいは個体老化に伴い DNA 損傷が蓄積していくことを知っていらっしゃるかと思います。しかし、それはどんな傷なのでしょう?すべての動物が同じような傷を老化とともに蓄積しているのでしょうか?そこで、 $\gamma$ -H2AX の免疫染色とテロメア配列の FISH 法を、同時に染色体上で行うことで、老化に伴う DNA 損傷の発生部位を明確にすることにしました。この方法を用いることで、DNA 損傷の発生場所がゲノム上のどこに見られるかを、その染色体上の位置で明確に示すことができるのです。その結果、ヒトでもマウスでも老化に伴う  $\gamma$ -H2AX の蓄積は同様に認められるものの、ヒト細胞ではテロメア部分への損傷蓄積が優位であるのに対し、マウス細胞では活性酸素等による非特異的部位への損傷蓄積が優位であることが明らかとなりました[2]。この結果は DNA 損傷の種類にかかわらず、ある一定の DNA 損傷が蓄積することが哺乳類の老化を誘発する共通した要因であることを示したものでもあります。

次に取り組んだのは DNA 損傷部位に形成される

修復たんぱく質フォーカスについての詳細な解析です。DNAの傷は一つ、それなのに現在までに一体どれほどのDNA損傷修復たんぱく質が同定されているのでしょうか？そして、その中のどれほどのたんぱく質が損傷部位に「共局在」すると言われているのでしょうか？一つの損傷部位に数十の修復たんぱく質が共局在するとは、まるで砂場に立てた小さな旗に群がる人々のようです。この「共局在 (co-localize)」という言葉は実に便利で、そしてあいまいな言葉だと思いませんか？そこで、一つの方法としてDNAの高次構造をマグネシウムイオンの量を調整することで可逆的に崩壊させ、損傷部位に局在するDNA修復たんぱく質の空間的關係を詳細に可視化しました。フォーカスを“解剖”することで、その構造をより正確に可視化したのです。また、細胞周期特異的な修復たんぱく質のフォーカス形成にも着目し、「いつ、どこに、どのように」修復たんぱく質が局在しているのかを検討しました。その結果、 $\gamma$ -H2AXやMDC1はDNA損傷部位に広範囲に存在するのに対し、NBS1や53BP1は損傷部位の付近にのみフォーカスを形成していることが明らかとなりました。また、細胞周期依存性では、 $\gamma$ -H2AXのフォーカスは細胞周期を通じて検出されるのですが、53BP1やNBS1のフォーカスはM期に進行するに従って消失し、G1期への進行に伴って再び形成されることが分かりました。こうした結果は、発生した傷を修復するために、多数のたんぱく質が空間的にも、時間的にも、その機能によって緻密にオーガナイズされていることを示しています[3]。

その後、数年間は、基礎研究のデータを臨床に応用する応用研究に強い関心を持ち、 $\gamma$ -H2AXをDNA損傷のバイオマーカーとして用いるための予備研究を行いました。同じLMP内の新規薬剤の臨床研究を行っているグループとの共同研究では、新規がん治療薬のPhase Iトライアルに参加させていただきましたし、アメリカ陸軍研究所との共同研究では、放射線被ばく量のモニタリングが体内の $\gamma$ -H2AXを定量することで可能であることを示唆するデータを報告しました[4]。こうした臨床応用研究は、様々なラボとの共同研究を非常に良い形で行うことのできる

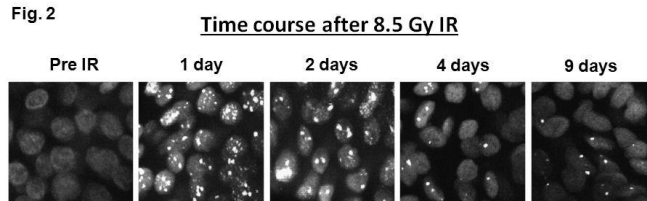
NIHの研究姿勢があったからこそ可能であったのだろうと思います。

### 日本に帰国してからのこれから

最後に、現在の研究テーマについて少し紹介させていただきます。一般的に、放射線照射後、 $\gamma$ -H2AXのフォーカス形成として検出されるDNA損傷のレベルは30分で最大値となり、その後4時間までに約70%が修復、残り30%がその後、緩やかに修復されることが分かっています (Fig. 2)。こうした結果は、DNA損傷が最終的に照射前と同じレベルまでに修復されるには、より長い時間を要すること、つまり、DNA損傷の修復過程が二層性であることをしめしていると考えられます。しかし、なぜ二層性なのか？先に修復されるDNAの傷と、後で修復されるDNAの傷の違いは何か？DNA損傷の修復速度の違いが生じる詳しいメカニズムは解明されていないのです。また、先ほどお話しましたように、放射線照射直後、 $\gamma$ -H2AXのフォーカス形成はDNA損傷部位周辺で非常に広い範囲で認められることが分かっていますが、この残存型DNA損傷部位でも、同じように約20Mbpという広範囲で $\gamma$ -H2AXのフォーカスが形成されているかは不明なままです。こうした点を明らかにする事は、放射線（さらにはその他のDNA損傷誘発因子）によるDNA損傷が、どのような残存型DNA損傷を生み出し、そしてその結果としてどのような長期的生物学的影響を個体にもたらすのかを予測するために非常に重要だと考えられます。

いずれにしても、NIHより大阪医科大学に移動し半年。まだまだ研究の立ち上げに苦勞をしている段階です。今後は、放射線生物研究センターの共同利用を積極的に活用することで、早急に本研究計画での実績をあげ、その実験結果を社会に還元できるようにしたいものです。

Fig. 2





## References:

1. Rogakou EP, Pilch DR, Orr AH, Ivanova VS, Bonner WM: DNA double-stranded breaks induce histone H2AX phosphorylation on serine 139. *J Biol Chem*, 273, 5858-5868, 1998.
2. Nakamura AJ, Chiang YJ, Hathcock KS, Horikawa I, Sedelnikova OA, Hodes RJ, Bonner WM: Both telomeric and non-telomeric DNA damage are determinants of mammalian cellular senescence. *Epigenetics & Chromatin*, 1, e6, 2008.
3. Nakamura AJ, Rao VA, Pommier Y, Bonner WM: The complexity of phosphorylated H2AX foci formation and DNA repair assembly at DNA double-strand breaks. *Cell cycle*, 9, 389-397, 2010.
4. Redon CE, Nakamura AJ, Gouliava K, Rahman A, Blakely WF, Bonner WM: The use of gamma-H2AX as a biodosimeter for total-body radiation exposure in non-human primates. *PloS one*, 5, e15544, 2010.



中村麻子  
大阪医科大学  
生命科学講座解剖学教室  
講師

## 【琵琶湖勉強会印象記】

### 第4回ゲノム動態と維持機構の研究会

琵琶湖コンファレンスセンターにおいて 2011 年 7/29-7/31 と 3 日間にかけて京都大学放射線生物研究センター主催第4回ゲノム動態と維持機構の研究会が行われた。京都大学放射線生物研究センターの職員、学生に加えて、東北大学、茨城大学、首都大学東京、東京大学、京都大学より 28 名の参加があった。

今回は「UV damage とシグナル伝達」、「神経発生とゲノム安定性」、「The role of chromatin dynamics in DNA damage response」、「DNA 複製ストレスとがん化」と4つのセッションに分けて論文紹介が行われた。また、特別招待講演として日本原子力研究開発機構より坂下哲哉博士、鈴木芳代博士をお招きし線虫の学習機構における放射線応答について講演を行って頂いた。

最初のセッションは「UV damage とシグナル伝達」で土生助教と大学院生の岡本さんにより「Nuclear IKK $\beta$  is an adaptor protein for I $\kappa$ B ubiquitination and degradation in UV-induced NF- $\kappa$ B activation」、大学院生の縄田さんと杉村さんにより「A chromatin localization screen reveals poly(ADP ribose)-regulated recruitment of the repressive polycomb NuRD complexes to sites of DNA damage」、田野准教授と大学院生の茂地さんにより「Replication fork stalling by bulky DNA damage: localization at active origins and checkpoint modulation」が紹介された。UV に受けた DNA 損傷はダイナミックなクロマチン構造変換を介して様々なシグナル伝達により修復されている事が解明さ

れつつありこの分野の重要性が改めて確認された。



招待講演では坂下哲哉博士が「線虫の学習行動に対する放射線の影響」といったタイトルで講演された。線虫には、温度、味覚、嗅覚などの学習パラダイムがあるが坂下博士は特に NaCl の味覚に対する化学走性を研究対象としている。線虫はもともと NaCl を好む性質を持っているが、えさを与えない状態で NaCl を多く含んだ寒天培地で育てると、NaCl を嫌いになる事が知られている。この現象を一つの学習と捉えると、学習後は NaCl に対する化学走性が減少することになる。しかし、えさのない状態で、NaCl 寒天培地で培養中、すなわち学習中に放射線を照射すると照射しない時よりもさらに NaCl に対する化学走性が減少する事が見出された。また、*gpc-1* 遺伝子の欠損変異体では同様の現象が観察されなかった事からこの現象には *gpc-1* が関与している事が示唆された。これらの現象より放射線が神経ネットワークの修飾に影響を及ぼしている可能性がある事を坂下博士らは考察している。

続いて、同じく日本原子力研究開発機構 鈴木芳代先生が「線虫の学習機構のニューラルネットワーク解析」というタイトルで講演された。鈴木先生の研究は、コンピュータ上で線虫を再現するという事を最終目標にしており、今回は線虫の神経回路モデルの構築を示された。17個のニューロン（それぞれが式によって成り立っている）を用いて実際の線虫の神経接続構造にもとづいた化学走性の神経回路モデルを構築し、このシステムを使って、線虫の好物である NaCl を目の前にしたときに体が動き出すまでの神経の流れをコンピュータ上で解析していた。報告済みの生物の結果と今回の解析結果が同様になったことから、このような計算論的手法も神経ネットワーク全体のシグナル伝達を解析するのに有用とのことであった。

2日目の午前のセッションは「神経発生とゲノム安定性」から始まった。坂下博士、大学院生の野間さんが「The genesis of cerebellar interneurons and the prevention of neural DNA damage require XRCC1」という論文を紹介した。脳の発生期はROSなどにより常にDNA損傷が生じており、それらの修復にはXRCC1などの修復タンパク質を必要とする。XRCC1などの欠損は、小脳の萎縮から眼球運動失行や脊髄小脳失調症を発症の原因となる事を紹介された。大学院生の漆原さん、安原さんが「Asymmetric centrosome inheritance maintains neural progenitors in the neocortex」を紹介した。脳の発生に重要な神経幹細胞である放射状グリア細胞は非対称分裂をするがその非対称性に中心体の非対称性が重要である事を紹介された。また、島田研究員と大学院生の佐藤さんが「Cdk5rap2 regulates centrosome function and chromosome segregation in neuronal progenitors」を紹介した。Cdk5rap2は中心体局在タンパク質であるが、脳の発生時においても神経幹細胞、前駆細胞においても中心体に局在しており、細胞の分裂時の極性を制御しているが分かった。これらの制御が正常に行われない為にヒトにおいては小頭症を発症するのではないかという可能性が示唆された。

2日目午後は“The role of chromatin dynamics in DNA damage response”というテーマでセッションが行われ、3報の論文が紹介された。井倉先生准教授と大学院生の宮本さんの発表は、転写の細胞記憶に関する論文だった。酵母のINO1とGAL1遺伝子は活性化する際に各周縁部に移動する。この移動した遺伝子は再活性化がとても素

早く、一度活性化したプロモーター部位にヒストンバリアントのH2A.Zが取り込まれていて、長い間活性化していない遺伝子と区別されているため素早い、という内容だった。竹田博士と大学院生の勅使河原さんの発表は、出芽酵母のH2A.ZとSUNタンパク質Mps3の結合に関する論文で、Mps3が核の内膜に局在するにはこの結合が重要である、という内容だった。Mps3とH2A.Zの結合は、H2A.Zのクロマチンへの取り込み非依存的におこっていたことから、H2A.Zの新たな機能を示唆する論文であった。

3日目の午前は「DNA複製ストレスとがん化」というテーマで最後のセッションが行われ、3報の論文が紹介された。高田教授と大学院生の平さんの発表は、がん遺伝子のひとつであるCyclin Eが過剰発現したときのDNA複製ストレスを分子レベルで解析した論文で、MCM複合体のうち、MCM2、MCM4、MCM7のクロマチンへのローディングが減少するという内容だった。海野研究員と大学院生の望月さんの発表は、がんの進展過程の初期段階ではATM-CHK2、ATR-CHK1といったDNA損傷応答機構が活性化しており、それによって腫瘍の悪性化を防いでいるという内容であった。このDNA損傷応答機構の活性化を分子レベルで見ると、Cyclin Eなどのがん遺伝子の過剰発現によって生じるDNA複製ストレスに応答して活性化していることが示された。

空き時間には琵琶湖周辺の散歩やサイクリング、テニスなど各々が自由な時間を過ごす事が出来た。また、初日と2日目のセッション終了後には懇親会及びバーベキューが行われ、大学間同士の交流や親睦が深められた。



海野純也（晩発効果研究部門）  
島田幹男（ゲノム動態研究部門）  
京都大学放射線生物研究センター  
研究員

## 【大会印象記】

### 第 17 回国際癌治療増感研究会に参加して

第 17 回国際癌治療増感研究会が 6 月 24, 25 日に、福本学先生（東北大学 加齢医学研究所）を大会長として、まだ地震の影響も残る仙台で開催されました。この時期、東北新幹線は復旧していたものの、仙台空港は部分復旧で航空便も非常に制限されている中、全国から約 70 名の参加者がありました。私はこの研究会は初めての参加でしたが、東北大学には福本先生をはじめ、お世話になっている人も多く、震災後の仙台の状況もみてみたいと思い、参加いたしました。私は関西からの参加のため、飛行機で仙台空港に到着し、普段は鉄道（仙台空港アクセス線）で仙台市内まで向かうのですが、鉄道はまだ復旧しておらず、空港連絡バスで市内まで向かいました。バスの車窓からは、空港周辺に残るうずたかく積まれたままの瓦礫の山、高速道路からは津波の影響で家屋が流されてしまった跡が見え、3 ヶ月半たったこの頃でも地震の影響が色濃く感じられましたが、バスが仙台市内の中心部に入るとうって変わり、普段の大都会の風景が広がっていました。

研究会は、第一日目は仙台市内にある赤門鍼灸柔専門学校の講堂を会場として、福本大会長の開会の辞で開始されました。



第一日目のセッションでは一般演題が 12 題、受賞記念講演 5 題、要望演題セッション「ハイパーサーミアの今後と展開」、特別講演が行われました。その中でも興味深かった演題をいくつか紹介したいと思います。一般演題で東北大学志村勉先生は「AKT/GSK3beta/Cyclin D1/Cdk4 経路を標的とした癌細胞の放射線耐性の抑制」を発表されました。癌の

放射線治療における分割照射の過程で癌細胞が放射線耐性を獲得することは治療効果をうるうえで非常に問題となっている。近年の研究から癌幹細胞がこのような放射線抵抗性に関与することが示唆されるので、放射線分割照射を継続したときに、放射線抵抗性と考えられる癌幹細胞のみが生き残るかを検討した。HepG2, A172 の癌由来培養細胞で 2Gy 照射を 1 日 1 回 60~80 日継続すると、幹細胞マーカーの一つである CD133 陽性細胞のみが生存、濃縮され、癌幹細胞が放射線抵抗性の要因だと考えられた。このような癌幹細胞では AKT, Cdk4 のキナーゼが活性化されており、これらの阻害剤を添加することにより、放射線耐性細胞の増殖が抑制され、AKT, Cdk4 活性をターゲットとした治療が、放射線耐性の克服には有益であることが示唆された。同じく一般演題で群馬大学高橋昭久先生は「DNA 修復を標的とした温熱増感研究」で発表された。温熱 (45.5°C) 処理の DNA 修復への影響をみるために、NHEJ, HR それぞれの因子を欠損した MEF 細胞で温熱処理後のコロニー形成を検討すると NHEJ 欠損では影響はみられなかったが、NBS1, BRCA1/2, BLM, XRCC2 などの HR 遺伝子欠損細胞では、中程度の感受性の上昇が見られた。また、hprt 遺伝子を用いた HR 修復検出系では、温熱処理で HR 活性の上昇がみられ、HR 因子を標的に遺伝子ノックダウンすることにより、温熱効果をできる可能性が示唆された。

一日目最後のセッションでは、特別講演として、慶應義塾大学先端生命科学研究所（山形県鶴岡市）の曾我朋義先生は「最新のメタボローム解析によるがん研究」を講演された。質量分析計を用いたプロテオーム研究を馴染みの方は多いと思いますが、曾我先生は質量分析計を用いた細胞内低分子代謝物群の解析（メタボローム解析）の第一人者として著名な方で、メタボローム解析の原理、適用事例について詳細な発表があった。通常タンパク質（ペプチド）の質量分析ではアミノ酸の一部は陰性に帯電するため、陽極側に質量分析装置を接続するが、小分子代



謝産物では陽性帯電も考えられるため、陽極、陰極それぞれに接続した専用の質量分析計を用いて、メタボローム解析はなされる。癌細胞は一般的に糖代謝が亢進していることが知られているが、この装置で肝臓癌細胞と正常肝由来細胞を比較解析すると、癌細胞では糖代謝を担う解糖系で生成される代謝物が増加していることが確認された。また、膵臓癌では他の癌と異なり血流が少なく、糖代謝も更新していないことが知られていたが、そのエネルギー供給路は謎であった。同様にメタボローム解析を行うと、TCA 経路の代謝物のうち、フマル酸、コハク酸のみが増加しており、これは無酸素で生存できる回虫と同様であった。回虫はコハク酸合成阻害剤に致死であるが、膵臓癌細胞でもこの阻害剤に致死であり、アミノ酸を由来してフマル酸からコハク酸合成により、ATP を産生する経路が膵臓癌のエネルギー供給源であり、この経路の阻害が新規の抗癌剤のターゲットになることが考えられた。講演後半ではアメリカでの急性肝炎の最大の発生要因であるアセトアミノフェンによる薬物性肝炎の発症経路の解明について話された。マウスにアセトアミノフェンを投与すると高頻度で肝炎を発症するが、吸収されたアセトアミノフェンの99%は肝臓で無毒化され、1%はP450により毒性物質に変換されるが、体内のグルタチオンと結合して、体外に排出されるため、急性肝障害は発症しない。このようなモデル系で急性肝炎を発症したマウスと未発症マウスをメタボローム解析すると、未発症マウスではグルタチオンの増加が見られ、急性肝炎を発症したマウスではグルタチオンと類似構造のオフタルミン酸が増加していた。これはグルタチオン合成酵素が違う材料物質を取り込んだために生成されたと考えられた。オフタルミン酸は肝炎マウス血中や、肝炎を発症した人の血中でも検出でき、急性肝炎診断の有効なマーカーになりうることを示唆された。

特別講演終了後、参加者は作並温泉の岩松旅館へとバス移動し、懇親会で交流の輪を広げるとともに、温泉に使ってくつろぎ、その日のプログラムは終わりました。



2日目のプログラムは一般演題、シンポジウム、ランチョンセミナーという内容でしたが、一般演題で北海道大学安井博宣先生が「Dichloroacetate を用いた癌細胞の代謝調節による放射線増感作用」を発表された。癌細胞では解糖系によるエネルギー産生を行うためTCA回路によるエネルギー産生の場合であるミトコンドリアで起こるアポトーシスシグナルも抑制されている可能性が考えられる。ピルビン酸脱水素酵素キナーゼ (PK) はピルビン酸の TCA 回路への導入を抑制しているが、その阻害剤である Dichloroacetate (DCA) はミトコンドリア TCA 経路の亢進できると報告されるので、DCA により放射線誘導細胞死を増強できるか検討した。マウス口腔扁平上皮癌由来 SCCVII 細胞を DCA 処理するとミトコンドリア膜電位、酸素消費率の上昇と、ミトコンドリアシグナルの活性化が認められた。また、DCA 処理により X 線感受性も増大し、活性酸素種の増加も見られ、DCA はミトコンドリアシグナルの活性化、活性酸素種の増大を通して、放射線感受性を増強すると示唆され、癌治療の一つのターゲットとなると考えられる。

その後のシンポジウム「癌治療のストラテジー：細胞同期と細胞死そして標的化」では4名の著名な先生が講演されたが、その中で東北大学中山啓子先生の「Ku80 ユビキチン化を介した DNA 二重鎖切断修復制御」は非常に興味深い講演であった。ユビキチン化修飾は様々な生命現象に機能することが知られているので、様々な RING-finger タンパク質ユビキチンリガーゼ (RNF) と結合するタンパク質を網羅的に同定すると、その一つが Ku70/Ku80 と結合することが明らかとなった。この RNF タンパク質は IR 依

存的に Ku70/Ku80 と結合することが免疫沈降で確認され、in vivo で Ku70/Ku80 をポリユビキチン化した。laser micro-irradiation 法ではこの RNF の Ku 依存的な DNA 損傷部位への集結がみられた。また、過剰発現すると Ku80 タンパク質が減少し、放射線感受性の増加、 $\gamma$ -H2AX の消失遅延が見られ、Ku80 欠損細胞と表現型が類似していた。また、過剰発現させるとレポーターアッセイで、NHEJ 活性の低下、HR 活性の上昇が見られ、これらの結果から、この RNF は DNA 損傷部位の Ku をユビキチン化経路で分解することにより DNA 修復経路の制御、NHEJ と HR との転換に機能する可能性が示唆された。



このように多くの興味深い講演の中、2日の会期は瞬く間に過ぎました。癌治療の増感を目的として、癌治療を専門とする臨床研究者と、放射線生物学などの基礎研究者が一堂に会するこのような機会は日本ではまれであり、今回の参加は私にとって貴重な経験になりました。放生研ニュース読者の皆様にも今回の研究会を主催した国際癌治療増感研究協会にご興味をもっていただければ幸いです。なお、今回の大会長をなされました東北大学福本学先生は、来年（平成24年）9月6日（木）～8日（土）に仙台市で開催されます日本放射線影響学会第55回大会の大会長をつとめられます。震災から復興した仙台の地で来年開催される影響学会大会には、多くの方に参加していただきたいと思います。

小林純也  
 京都大学放射線生物研究センター  
 ゲノム動態研究部門  
 准教授

## 【大会印象記】

### 14<sup>th</sup> International Congress of Radiation Research (ICRR) 印象記

14<sup>th</sup> International Congress of Radiation Research (ICRR) が8/28-9/1の5日間にわたってポーランドの首都、ワルシャワにおいて開催された。ワルシャワはキュリー夫人の故郷であり放射線に縁の深い土地である。



ワルシャワの美しい街並み

また、音楽家のショパンの生誕地でもあり文化と教養が古くから根付いており、国際学会にふさ

わしい土地であった。会場はワルシャワの街の真ん中にそびえ立つ文化科学宮殿で行われた。

文化科学宮殿は1955年、当時ソビエト連邦のスターリンによって建造され、宮殿と呼ぶにふさわしい荘厳な造りで、建物の中も迷宮のような構造であった。



学会会場である文化科学宮殿（右）

大会初日は大会長である Antonina Cebulska 博士の挨拶で始まった。その後ポーランドフォーク



ロアダンスグループ PROMNI によるポーランド民族舞踊が披露された。



ポーランドの民族舞踊の様子

さて、今回の学会の発表内容であるが、放射線物理、化学、生物学全般に関して広く行われていたが、特に生物学に関しての発表が多かった。生物学に関しては広く DNA 修復から低線量率放射線影響、放射線発癌、環境生態学に関して発表が行われていた。特に今回は 3 月 11 日の震災による福島原発の後の学会である為に奈良県立医科大学の大西武雄先生による特別講演も行われた。それに関連して、Eye opener lecture では児玉和紀博士（放影研）が原爆生幸存者における放射線リスクについての講演、Conference lecture として Dr. Wakeford（マンチェスター大学）が事故から 25 年たつチェルノブイリ周辺地域での疫学調査についての講演を行ったが、どちらも多くの参加者を集め、海外参加者の福島原発事故に対する関心の高さを感じさせるものであった。

ポスター会場でも多くの発表が行われていた。その中から一つ取り上げると、重粒子線と X 線での  $\gamma$ H2AX のでき方について、次世代シーケンサを使った ChIP-Seq アッセイの結果が報告されていた。それによると、X 線照射の場合ではヘテロクロマチン領域に  $\gamma$ H2AX の局在があまり見られず、重粒子線照射の場合ではヘテロクロマチン/ユークロマチンの区別無く  $\gamma$ H2AX が局在しており、X 線ではヘテロクロマチンに DSB が生じにくいのではないかと考察されていた。ヘテロクロマチンには DNA 修復タンパク質がアクセスしにくいという考察はよく見受けられるが、ROS も DNA にアクセスしにくいのであろうか。また、重粒子

線照射により DSB が生じた場合、ヘテロクロマチンであっても H2AX をリン酸化する酵素は何の障害もなくアクセスできるのであろうか。このような全染色体を対象とした ChIP-Seq 解析により、今後より一層の事実が明らかとなっていくのではないかとと思われる。

最終日にはマリー・キュリーの功績についてのレクチャーが行われた。科学者としての功績は言うに及ばず、それにも増して、女性初のノーベル賞受賞者という側面の方が社会的な影響は大きく、彼女の毅然とした態度が社会に変化をもたらす大きな原動力となったことが伝えられた。



マリー・キュリーに関するレクチャーの様子

閉会式では、次回 2015 年に開催の京都大会の紹介が行われた。平岡真寛先生（京都大学）を大会長、神谷研二先生（広島大学）を実行委員長として、京都国際会館を会場として行われる予定である。今後の進展が京都に集結することになる。



ICRR2015 の紹介

加藤晃弘、島田幹男  
放射線生物研究センター  
ゲノム動態研究部門  
研究員

## 【放生研日誌】

- 7月3日 第6回京都大学附置研究所・センターシンポジウム  
7月4日 所員会議  
7月15日 RU11 シンポ京都大学  
7月29日 京都大学シンポジウムシリーズIV「大震災後を考える」  
7月29-31日 琵琶湖勉強会  
8月5日 RI再教育訓練（講師 畑澤 順大阪大教授）  
8月19日 五十嵐 和彦教授（東北大学）セミナー  
「震災から学んだエピゲノムの自給自足機構」  
8月22日 山野 博之教授（ロンドン大学 癌研究所）セミナー  
「APC/C ユビキチンシステムと細胞周期制御」  
8月22日 船引 宏則准教授（ロックフェラー大学）セミナー  
「スピンドルから核へ：クロマチンによる細胞内構造体形成の制御」  
8月24日 協議員・運営委員会  
9月6日 所員会議  
9月11-12日 国際専門家会議「放射線と健康リスクー世界の英知を結集して福島を考える」  
9月13日 荒川 央博士（Max-Planck Institute for Biochemistry）セミナー  
「DNA Ligase III supports all essential DNA ligation functions in vertebrates」  
9月26-27日 疫学研修会（放射線影響研究所、広島）

## 【編集後書き】

今年の京都の夏は議論が沸騰して例年になく暑い季節でした。大分在住の芸術家の進言で、五山の送り火（大文字）に陸前高田市の松を燃やす準備が進められていた。しかし、放射能汚染の懸念（実際には汚染されておらず）で一旦中止、その後市民の声に押されて撤回したが、今度は再び送って貰った松の樹皮に汚染が確認されて再度中止の決定となった。京都市民も陸前高田市民もそして恐らく大文字保存会も落胆する結果となった。送り火で燃やすのは、通常松の芯を使った護摩木であるので、最初に送って貰った松には放射能は検出されなかった。この護摩木は既に陸前高田市で燃やされたために、二度目は樹皮部分を含む松そのものを燃やそうとしたのがいけなかった。放射能は表面に付着したセシウムに由来することを知らなかったようである。原発事故以来、放射線や放射能の知識が市民に確実に浸透してきたようであるが、まだまだ知識普及の我々の活動は必要である\*。

私が研究者として駆け出しの頃、放射線生物研究センターは紫外線損傷の修復機構研究の1つの拠点であった。放射線の研究施設なのに、紫外線について研究するのに奇異な印象を受けた記憶がある。これは当時、放射線の損傷応答機構に関する分子レベルの研究が全く進んでいなかったためであろう。このように長い間、紫外線と放射線は全く別物と思われていたが、本紙に紹介された柳原等の論文は驚きである。従来、放射線の蛋白と見なされていたNBS1が、紫外線損傷応答（正確には損傷乗り越えDNA合成）を開始させる蛋白であったからである。長い間、誰も気づかなかったのも不思議であるが、これがDNA修復ネットワークでどのような意味を持つのかもこれからである。広義の放射線修復研究の今後の進展に期待したい。

\*追記：増刊号として前回お届けした「長期汚染地域の住民のための放射線防護の実用的手引き」が放生研ホームページあるいは直接WEB <<http://www.rbc.kyoto-u.ac.jp/Information/bougo-tebiki.pdf>> からダウンロード出来るようになりました。

---

編集委員 小松賢志、小林純也、加藤晃弘、島田幹男、柳原啓見、谷崎美智  
問い合わせ先 Tel : (075)753-7551、E-mail : jimuhosei@office.med.kyoto-u.ac.jp



# 27<sup>th</sup> RBC-NIRS INTERNATIONAL SYMPOSIUM

"CHROMATIN DYNAMICS AND EPIGENETIC MEMORY IN DNA DAMAGE RESPONSE"

Dec 9 to 10 2011, at Co-op Inn Kyoto

第27回 RBC-NIRS国際シンポジウム

## DNA損傷応答シグナルにおける クロマチン動態とエピジェネティック制御

2011年12月9日(金)・10日(土)

会場 **コープ・イン・京都**  
〒604-8113  
京都市中京区柳馬場塙薬師上ル井筒町 411

### Invited Speaker

**Jerry L. Workman**  
(STOWERS INSTITUTE)

**Mitunori Saitou**  
(Graduate School of Medicine and Faculty of Medicine, Kyoto University)

**Kanji Furuya**  
(Radiation Biology Center, Kyoto University)

**Taucher-Scholz, Gisela**  
(GSI Helmholtz Center for Heavy Ion Research)

**Kenshi Komatsu**  
(Radiation Biology Center, Kyoto University)

**Michael Lieber**  
(University of Southern California)

**Chikahide Masutani**  
(Nagoya University Research Institute of Environmental Medicine)

**Hozumi Motohashi**  
(Tohoku University Graduate School of Medicine)

**Alessandro A. Sartori**  
(University of Zurich Institute of Molecular Cancer Research)

**Yoichi Shinkai**  
(Institute for virus Research Kyoto University)

**Kaoru Sugasawa**  
(Biosignal Research Center, Kobe University)

**Jesper Svejstrup**  
(Cancer Research UK London Research Institute)

**Minoru Takata**  
(Radiation Biology Center, Kyoto University)

**Jessica Tyler**  
(The University of Texas MD Anderson Cancer Center)

**Wei Yang**  
(National Institute of Health, NIH)

**Akira Yasui**  
(Institute of Development, Aging and Cancer, Tohoku University)



### お問い合わせ先

京都大学 放射線生物研究センターシンポジウム事務局  
〒606-8501 京都市左京区吉田近衛町  
TEL.075-753-7556 FAX.075-753-7564  
E-mail: matsuura@house.rbc.kyoto-u.ac.jp  
URL: <http://www.rbc.kyoto-u.ac.jp/>

### 後援

文部科学省新学術領域研究 「ゲノム複製・修復・転写のカップリングと普遍的なクロマチン構造変換機構」  
(領域代表者: 学習院大学・理学部・花岡文雄 <http://www.dnarepair.jp/>)

財団法人 京都大学教育研究振興財団