

Annual Report

共同利用・共同研究拠点

# 京都大学 放射線生物研究センター

Radiation Biology Center, Kyoto University

2016-2017



## 1. ご挨拶

放射線生物研究センターは、放射線が生物に及ぼす影響に関する基礎研究を行うとともに、関連領域の研究者間の交流と協力の推進を目的として、日本学術会議の勧告に基づき、1976年（昭和51年）5月に全国共同利用施設として京都大学に設置されました。放射線生物学研究は、人類が放射線を入手した百年余の歴史に留まらず、数十億年の生物進化により獲得したゲノム維持機構を追求する基礎研究領域として発展を遂げて参りました。この潮流は、1990年代以降、分子生物学的手法の発展とともに、数多くのDNA損傷応答遺伝子の同定として結実しました。さらに21世紀の現在、この分野は、生命科学の最先端のフロンティアのひとつとして、真の意味でセンター設立の理念が実現に向かおうとする時節が到来しています。また、がんの放射線治療をはじめとした医療技術開発の生物学的基盤として、また福島原発事故後の放射線リスク評価の学術的基盤として、現代の社会生活と密接に関わる研究領域としても期待されているところです。

一方、我が国独自の研究システムである「全国共同利用研究施設」は、日本の科学研究の発展に重要な貢献を果たしてきました。さらに学術研究の基盤強化と新たな学術研究の展開を目的として、「共同利用・共同研究拠点」制度が発足し、2010年、当センターも「拠点」認定を受けました。この制度のもと、外部に開かれた運営委員会・協議会による運営を大きな特徴とする当センターは、共同利用・共同研究の推進、全国研究者への放射線源の利用と研究材料研究ノウハウの供与、現在まで32回に及ぶ国際シンポジウムなどの研究集会開催により、我が国の放射線生物学の先端的基礎研究の中心拠点として機能しております。幸い、2013年度の拠点中間評価では、当センターの研究ポテンシャルと人材育成、社会貢献活動などがあいまって『S』評価をうけ、2015年度の最終評価では『A』評価を獲得することができました。2016年度からは、第三期中期計画期間中の共同利用・共同研究拠点として再スタートを切っています。

当センターは、今後も設立の理念である「放射線の人体影響の基礎生物学的な解明」にフォーカスし、全国共同利用・重点領域研究のさらなる推進、生命科学の先端領域としての放射線生物研究の情報発信、放射線生物学分野の次代を担う研究者の育成、ならびに放射線生物研究により得られた知識の社会還元を目指して努力する所存です。ここに、2016年度の年報に相当する内容を含め、センターと拠点の概要2016を刊行するにあたり、みなさまの一層のご理解とご支援をお願い申し上げます。

平成29年9月末日  
センター長 高田 穰

## 2. 沿革

昭和37年 2月	日本学術会議原子力特別委員会放射線影響部会が長期計画小委員会を発足させ、放射線影響研究の将来の検討を開始。	昭和55年 5月	日本学術会議が「放射線影響研究における研究・教育体制の整備について」の要望書を政府に提出。
昭和41年 5月	日本放射線影響学会に放射線影響研究に関する将来計画検討委員会が発足。	昭和58年 4月	晩発効果研究部門設置。
昭和43年11月	日本学術会議が放射線障害基礎研究所の設立案を含む「放射線影響研究の推進について」を政府に勧告。	昭和58年11月	日本学術会議が放射線生物研究センターの拡充案を含む「大学関係を中心とした原子力基礎研究ならびに放射線影響研究の推進について」を政府に勧告。
昭和43年11月	日本学術会議原子力特別委員会の下に放射線影響研究推進小委員会設置。	昭和59年11月	センター研究棟第一期工事竣工。
昭和43年12月	放射線影響研究推進小委員会に第1、第2、第3専門委員会設置。 第2専門委員会で放射線障害基礎研究所設立を検討。	昭和61年 4月	武部啓教授センター長に就任。
昭和45年12月	放射線障害基礎研究所設立準備委員会発足。	昭和62年 4月	放射線類似作用客員研究部門設置。
昭和46年 4月	放射線障害基礎研究所を京都大学附置の共同利用研究所として概算要求。	昭和63年 4月	岡田重文教授センター長に就任。
昭和51年 5月	全国共同利用施設「京都大学放射線生物研究センター」設立。 放射線システム生物学研究部門及び事務部設置。 菅原努教授センター長に就任。	平成元年 4月	武部啓教授センター長に就任。
昭和51年10月	放射線生物研究連絡会議発足。	平成 5年 4月	佐々木正夫教授センター長に就任。
昭和52年 1月	放生研ニュース創刊。	平成 5年 5月	自己点検・評価委員会発足。
昭和52年 4月	核酸修復客員研究部門設置。	平成 6年 3月	研究棟増築工事竣工。
昭和53年 4月	突然変異機構研究部門設置。	平成 7年 4月	文部省COE支援プログラムに指定。
昭和54年11月	日本学術会議放射線影響研究連絡会に将来計画検討小委員会が発足。	平成 9年 4月	池永満生教授センター長に就任。
昭和55年 4月	鳥塚莞爾教授センター長に就任。	平成11年 4月	丹羽太貫教授センター長に就任。
		平成13年 4月	ゲノム動態研究部門設置。
		平成15年 4月	小松賢志教授センター長に就任。
		平成21年 4月	松本智裕教授センター長に就任。
		平成22年 4月	共同利用・共同研究拠点に認定。
		平成25年 4月	高田穰教授センター長に就任。
		平成28年 4月	共同利用、共同研究拠点に再認定。

## 3. 共同利用実験機器



低線量長期放射線照射室



ガンマーセル



DNA損傷応答モニタリングシステム



放射線・薬剤応答自動記録システム



X線照射装置



低酸素細胞培養装置



動物用光イメージング装置



## 4. 放生研の社会貢献活動

渡邊正己（特任教授）



霧箱による放射線飛跡の観測実習風景

2011年3月11日に発生した東日本大震災に伴う東電福島第一原発事故発生の直後から、京都大学放射線生物研究センターは、日本放射線影響学会有志とともに福島原発事故対応プロジェクトを立ち上げ様々な放射線影響Q&A活動の拠点としての役割を果たしてきた。この活動は、本年度で6年目を迎えたが、福島県民に限らず、依然として国民の不安が解消されたとはいえない状況にある。我々は、これまで、2014年9月<sup>注1</sup>および2017年3月<sup>注2</sup>に、放射線影響Q&A活動の内容を見直し、その結果をもとに、次の3年間の活動方針を定め行動してきた。そして、現時点で、原発事故のような人命に関わる危機的事象が発生した際に最も必要とされることは、「**国民が目の前で起きている事象を科学的に捉え、論理的に判断し行動することのできる資質を備えること**」であると結論した。その観点で、振り返ってみれば、我が国では、高度経済成長期を経て、初等教育から高等教育のいずれにおいても、原子力および放射線に関する教育の機会が大幅に減少し、国民の原子力および放射線に関する基礎知識が著しく低下していることがわかった。そのことが、福島第一原発事故後、福島県民ばかりで

なく、国民全体に放射線に対する不安が広がった主因と予想される。そこで、我々は、事故直後から国民に対して、放射線や原子力の基礎知識を解説するために展開してきた放射線影響Q&Aセミナーを継続するとともに、各地の教育関係部署と協働し次世代を担う小・中学校生徒に対する**放射線教育支援活動<sup>注3</sup>**に力を注いでいる。その結果、最もこのプログラムの導入が進んでいる郡山市では、2014年4月～現在までに実施校が70校を超え、およそ12,000名の生徒が受講し、緊急時に活躍できる人材の育成成果が評価されるようになってきた。2017年度は、高等学校3校を加え19校における教育支援の実施が決定している。

### 活動業績

1. 福島原発事故対応プロジェクト「放射線生物研究者がおこなった放射線健康影響に関する理解促進支援活動の記録」京都大学・総長裁量経費「原発事故後リスク事象に対応したコミュニケーションシステム構築」（平成28年度）によって作成。
2. 独立行政法人・科学技術振興機構・震災復興促進支援事業「放射線の健康影響に関するQ&A講演会支援事業」（平成24年度～平成27年度、平成29年度）
3. 国立研究開発法人・量子科学技術研究開発機構・放射線医学総合研究所 QST 未来基金事業（平成29年度）

<sup>注1</sup> 本当のところを教えて！放射線リスク-放射線影響研究者からのメッセージ（平成26年9月発行）

<http://rbnet.jp/shiryu/honto.pdf>

<sup>注2</sup> 福島原発事故対応プロジェクト「放射線生物研究者がおこなった放射線健康影響に関する理解促進支援活動の記録」（平成29年3月31日発行）<http://rbnet.jp/shiryu/170331fukushima.pdf>

<sup>注3</sup> 南相馬市原町第一中学校における放射線影響セミナー風景 <http://rbnet.jp/shiryu/170331fukushima.pdf>

## 放射線システム生物学部門／ゲノム維持機構研究分野

教授 松本 智裕

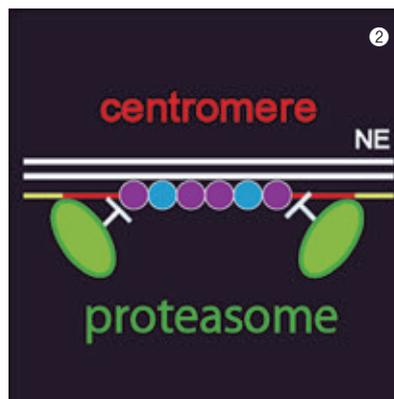
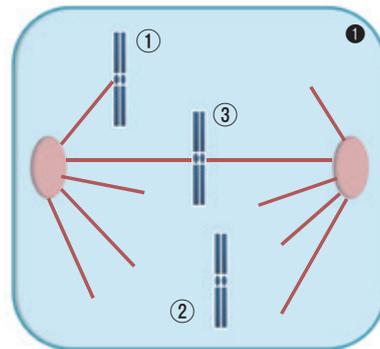
Department of Radiation System Biology

Tomohiro Matsumoto, Ph.D.  
Professor

生命の設計図ともいえる染色体DNAは、細胞が倍加する際には正確に複製された後、均等に娘細胞に分配されなければなりません。不均等な分配により生成する染色体数が多い細胞、あるいは少ない細胞（これらを異数体とよぶ）が子孫に継承されると、ダウン症などの遺伝病の原因になると考えられています。また、異数体は癌の発病、また進行に強い影響をもつことが知られています。我々は、染色体の均等分配に必要なメカニズムについて酵母・ヒト培養細胞を材料として研究しています。

## ■ 研究・教育について

染色体が均等に分配されるためには、染色体動原体における紡錘糸の接続完了に引き続き、姉妹染色分体の解離が起こることが重要なルールです。我々の主な研究対象であるスピンドルチェックポイントは、このルールが遵守されるよう染色体の分配装置を調節することが主な機能です。このチェックポイントは、動原体が感知する紡錘糸の接触、あるいは張力といった物理的シグナルを変換・増幅し姉妹染色分体の解離の時期を制御する極めてユニークな負のフィードバック調節系です。このチェックポイントの主役はMad2とよばれる蛋白質です。Mad2は紡錘糸が接続していない動原体（すなわちシグナル発生源）に特異的に局在します。また、Mad2はそのターゲットであるCDC20と複合体を形成し、CDC20の本来の機能である姉妹染色分体の促進を阻害します。我々は、この負のフィードバック系で活躍するMad2について、その活性調節のメカニズムの解明を目指しています。また、動原体の足場であるセントロメア領域に特異的に存在するヒストンCenp-Aの分布を制御する機構も重要な研究対象です。Cenp-Aの分布が乱れることにより、動原体の異所形成や複数形成がおこり、染色体の均等分配が破綻することが知られています。「自分の研究が世界で一番面白い！」と信じて研究に没頭できる人材の育成に努めています。



①有糸分裂初期には、片側の動原体のみに紡錘糸（赤線）が接続した染色体（①）、あるいは、全く接続していない染色体（②）が存在します。これらの染色体の両側に紡錘糸が接続される（③）まで、姉妹染色分体の解離を遅延することがスピンドルチェックポイントの任務です。

②セントロメアにおけるCenp-A（図中の紫色の丸）の存在領域の大きさと、そこにおける密度は厳密に制限されています。最近の研究で、プロテアソーム（図中の緑色の楕円）がセントロメアにおけるCenp-Aの分布制御をすることを明らかにしました。

## ■ 研究業績

1. Kitagawa T, Ishii K, Takeda K, Matsumoto T. The 19S proteasome subunit Rpt3 regulates distribution of CENP-A by associating with centromeric chromatin. *Nat Commun.* 2014 Apr 7;5:3597. doi: 10.1038/ncomms4597.
2. Nakase Y, Nakase M, Kashiwazaki J, Murai T, Otsubo Y, Mabuchi I, Yamamoto M, Takegawa K, Matsumoto T. The fission yeast  $\beta$ -arrestin-like protein Any1 is involved in TSC-Rheb signaling and the regulation of amino acid transporters. *J Cell Sci.* 2013 Sep 1;126(Pt 17):3972-81. doi: 10.1242/jcs.128355.
3. Horikoshi Y, Habu T, Matsumoto T. An E2 enzyme Ubc11 is required for ubiquitination of Slp1/Cdc20 and spindle checkpoint silencing in fission yeast. *Cell Cycle.* 2013 Mar 15;12(6):961-71. doi: 10.4161/cc.23946.
4. Ito D, Saito Y, Matsumoto T. Centromere-tethered Mps1 pombe homolog (Mph1) kinase is a sufficient marker for recruitment of the spindle checkpoint protein Bub1, but not Mad1. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012 Jan 3;109(1):209-14. doi: 10.1073/pnas.1114647109.

放射線生物研究センター  
放射線システム生物学部門

教授：松本 智裕

講師：古谷 寛治

特任助教：中瀬由起子

TEL : 075-753-7552

FAX : 075-753-7564

e-mail : tmatsumo@house.rbc.kyoto-u.ac.jp

転写、複製、修復、組換えなどのDNA代謝を制御する蛋白質群はクロマチンを介してネットワークを形成しています。私達は、クロマチン制御蛋白質をゲノム損傷ストレス下で複合体として精製し(図1参照)、その構成因子の同定とそれら構成因子のバイオイミージング解析を駆使してDNA損傷応答に関与するクロマチン制御蛋白質ネットワークの全貌を明らかにしたいと考えています(図2参照)。これまでに私達は、TIP60ヒストンアセチル化酵素複合体によってアセチル化されたH2AXの動的変化が、損傷領域のクロマチンの弛緩を促すと共に、DNA損傷応答因子関連因子の集積を制御していることを明らかにしました(図3参照)。今後は、これらの知見をもとにヒストンの動的変化によってもたらされるエピジェネティックな変化とがん抑制シグナルとの関連を探りながら新たなゲノム疾患研究の構築をはかりたいと考えています。またこれらの研究を通して視野の広い若手研究者の育成にも取り組んで行く所存です。

## ■ 研究・教育について

**研究：**電離放射線は、酸化ストレス、DNA二本鎖切断といった生体にとって極めて重篤な障害をもたらすことが知られていますが、生体は、こういった障害を防御するシステムを兼ね備えています。我々の研究目標は、こういったゲノム損傷に対して生体がどのような仕組みでその防御システム(ゲノム損傷ストレス応答)を構築し、またそのシステムの破綻が、時として何故、がんや神経変性疾患になるのかを明らかにすることです。

具体的には、真核生物のゲノム特有の構造であるクロマチンの構成蛋白質ヒストンの化学修飾に着目して、ゲノム損傷ストレス応答について、機能的蛋白質複合体のプロテオミクス解析、バイオイミージング解析などの分子生物学的な手法を用いて研究を展開しています。また最近では、ストレスに応じて変化するヒストン化学修飾が、ゲノム損傷ストレス応答に関する蛋白質ネットワークの多様性を生み出すことを見出し、その多様性が生まれる仕組みと意義について数理的アプローチでの検討も開始致しました。このようにゲノム損傷ストレス応答の研究について分子生物学的な手法で得た知見を数理的解析を含めた構成的な手段で捉え直し、数理生物、統計学などの視点を積極的に取り入れ、学際的な研究を展開しています。これらの新たな視点でのストレス応答の研究が、これまで我々が行ってきたエピジェネティクス制御研究と相まって、生命が持つ巧妙な仕組みを理解することに繋がり、基礎生物学のみならずゲノム疾患研究など社会的貢献度の高い研究へと発展する可能性は大きいと思います。

**教育：**これまでの科学の蓄積された知見を知識として教えるトップダウン型の教育に加えて、教官と学生が、共に新たな疑問に向かい合い、その過程での苦勞を共有しながら研究を進めることに重きを置いています。学際的な研究の中で異分野の研究者との対話を通して自らの発想力で新たな学問の扉を開けることができる人材の育成を行うことを目指しています。

## 放射線生物研究センター

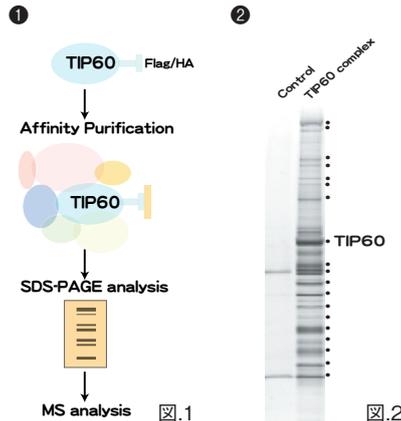
### 突然変異機構研究部門/クロマチン制御ネットワーク研究分野

准教授：井倉 毅

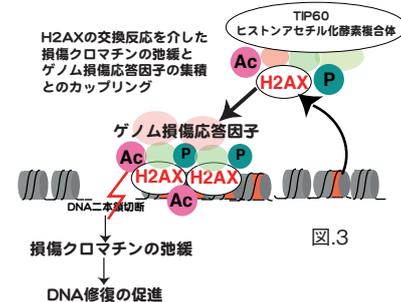
研究員：井倉 正枝

TEL : 075-753-7556

FAX : 075-753-7564



## ③ 損傷クロマチンの動的変化に着目したゲノム損傷応答ネットワークの解明



## ■ 本年度の主な実績

1. Kakumu E, Nakanishi S, Shiratori HM, Kato A, Kobayashi W, Machida S, Yasuda T, Adachi N, Saito N, Ikura T, Kurumizaka H, Kimura H, Yokoi M, Sakai W, Sugawara K (2017). Xeroderma pigmentosum group C protein interacts with histones: regulation by acetylated states of histone H3. *Genes Cells*. 22, 310-327, 24. doi: 10.1111/gtc.12479. [Epub ahead of print]
2. Aihara H, Nakagawa T, Mizusaki H, Yoneda M, Kato M, Doiguchi M, Imamura Y, Higashi M, Ikura T, Hayashi T, Kodama Y, Oki M, Nakayama T, Cheung E, Aburatani H, Takayama KI, Koseki H, Inoue S, Takeshima Y, Ito T (2016). Histone H2A T120 Phosphorylation Promotes Oncogenic Transformation via Upregulation of Cyclin D1. *Mol. Cell*. 64, 176-188.
3. Kaimori, J., Maehara, K., Hayashi-Takanaka, Y., Harada, A., Fukuda, M., Yamamoto, S., Ichimaru, N., Umehara, T., Yokoyama, S., Matsuda, R., Ikura, T., Nagao, K., Obuse, C., Nozaki, N., Takahara, S., Takao, T., Ohkawa, Y., Kimura, H., Isaka, Y (2016). Histone H4 lysine 20 acetylation is associated with gene repression in human cells. *Sci Rep*. 6: 24318

## ■ 研究業績

1. Ikura, M., Furuya, K., Fukuto, A., Matsuda, R., Adachi, J., Matsuda, T., Kakizuka A., Ikura, T (2016). Coordinated regulation of TIP60 and PARP-1 in damaged chromatin dynamics. *Mol Cell Biol*. 36:1595-1607.
2. Ikura, M., Furuya, K., Matsuda, S., Matsuda, R., Shima, H., Adachi, J., Matsuda, T., Shiraki, T., Ikura, T (2015). Acetylation of histone H2AX at Lys 5 by the TIP60 histone acetyltransferase complex is essential for the dynamic binding of NBS1 to damaged chromatin. *Mol Cell Biol*. 35: 4147-4157.
3. Matsuda, S., Furuya, K., Ikura, M., Matsuda, T., Ikura, T (2015). Absolute quantification of acetylation and phosphorylation of the histone variant H2AX upon ionizing radiation reveals distinct cellular responses in two cancer cell lines. *Radiat Environ Biophys*. 54: 403-411.
4. Ikura, T., Tashiro, S., Kakino, A., Shima, H., Jacob, N., Amunugama, R., Yoder, K., Izumi, S., Kuraoka, I., Tanaka, K., Kimura, H., Ikura, M., Nishikubo, S., Ito, T., Muto, A., Miyagawa, K., Takeda, S., Fishel, R., Igarashi, K., Kamiya, K (2007). DNA damage-dependent acetylation and ubiquitination of H2AX enhances chromatin dynamics. *Mol Cell Biol*. 27, 7028-7040.
5. Fuchs, M., Gerber, J., Drapkin, R., Sif, S., Ikura, T., Ogrzyzko, V., Lane, W.S., Nakatani, Y., Livingston, DM (2001). The p400 complex is an essential E1A transformation target. *Cell*. 106, 297-307.
6. Ikura, T., Ogrzyzko, V V., Grigoriev, M., Groisman, R., Wang, J., Horikoshi, M., Scully, R., Qin, J., Nakatani, Y (2000). Involvement of the TIP60 Histone Acetylase Complex in DNA repair and apoptosis. *Cell*. 102, 463-473.

# 晩発効果研究部門 / DNA 損傷シグナル研究分野

教授 高田 穰

Laboratory of DNA Damage Signaling, Department of Late Effects Studies

Minoru Takata  
Professor

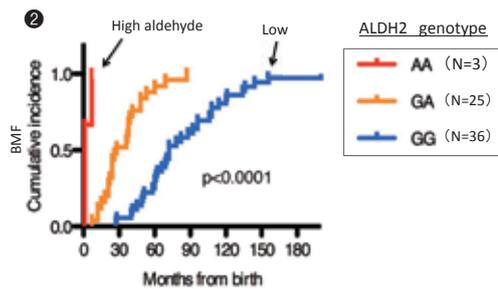
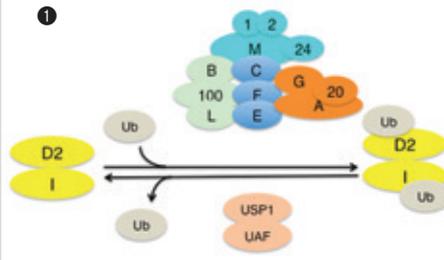
ヒト染色体ゲノムは、放射線などによる外因性、細胞内代謝に由来する内因性のDNA 損傷に常にさらされています。細胞にはこれを適切に処理し、DNA損傷とそれに由来する発がんを回避する強力な生体防御メカニズムが備わっています。まれな遺伝病「ファンコニ貧血」や「家族性乳がん」などのゲノム不安定症候群においては、この生体防御機構自体に異常があり、がんが多発します。我々はこれを「DNA 損傷シグナル伝達異常」ととらえ、疾患発症と発がんのメカニズムの解析を、遺伝学的・細胞生物学的手法や、患者サンプルの解析などによりすすめています。

## ■ 研究・教育について

DNA 損傷シグナル伝達機構は、放射線等によってゲノムに生じたDNA二重鎖切断 (DSB) やクロスリンクを検知し、リン酸化やユビキチン化を介した応答ネットワークを通じて、細胞周期停止、細胞死の誘導、損傷修復などを行い、染色体再編成、変異の蓄積などの抑制に寄与しています。DNA 損傷シグナルへの応答は、発がん初期過程におけるがん遺伝子活性化の津波への防波堤であり、遺伝的にそのシグナル伝達に異常をもった個体は高発がん性であることが知られています。また一般人のがん細胞でも高頻度にその欠損状態が観察されるので、がんはDNA 損傷シグナル伝達の病気と言えます。また、幹細胞の増殖維持にもこの機構は必須です。ファンコニ貧血は、この機構の一部に異常をもつ劣性遺伝性疾患で、骨髄の幹細胞不全と白血病などの高発がん、造血幹細胞維持やiPS細胞への初期化リプログラミング欠損を特徴としています。また、その原因遺伝子の変異キャリアーでは、家族性の乳がん、卵巣がんなどが発症します。合計現在20にものほるファンコニ貧血原因遺伝子産物のうち8種類は核内でユビキチンリガーゼであるコア複合体を形成し、下流のファクターであるFANCI, FANCD2を、放射線などによるDNA 損傷後モノユビキチン化します。モノユビキチン化されたFANCD2はクロマチン上に移行して、DNAヘリカーゼであるFANCD1等とともにDNA修復機能を発揮すると考えられます。たとえば、我々は最近日本人患者のゲノム解析によって、E2酵素UBE2Tの変異によってFAが発症することを同定しました (Am J Hum Genet 2015)。また、ドイツとの共同研究によって、新規FA遺伝子RFWD3を同定し (JCI 2017)、その機能の一端を解明しました (Mol Cell 2017)。こういった遺伝病は、ファンコニ貧血だけではありません。ほかにDNA 損傷シグナル異常を基盤として発症する放射線感受性疾患がいろいろ知られており、今後さらにがんが多発する患者さんに現在未知の分子異常が見つかる可能性が考えられます。我々の部門では、DNA 損傷応答シグナル伝達系の調節メカニズムとDNA 損傷修復におけるエフェクター機能の詳細を明らかにし、これらの分子機構の人為的調節法の開発につなげていくこと、これらの知見をがん患者とゲノム不安定症候群患者の病態解析に応用し、その診断治療をよりよいものにする、などを目標に研究を続けています。

## 放射線生物研究センター 晩発効果研究部門

教授：高田 穰  
准教授：石合 正道  
研究員：勝木 陽子  
研究員：平 明日香  
TEL：075-753-7563  
FAX：075-753-7564  
e-mail：mtakata@house.rbc.kyoto-u.ac.jp  
URL：http://www.rbc.kyoto-u.ac.jp/top.html



- ① ファンコニ貧血経路の概略模式図
- ② ALDH2遺伝子型による日本人患者における骨髄不全進行への影響
- ③ 研究室のメンバー 培養室で実験中

## ■ 研究業績

1. Biallelic mutations in the ubiquitin ligase *RFWD3* cause Fanconi anemia. Kerstin Knies, Shojiro Inano, María J. Ramírez, Masamichi Ishiai, Jordi Surallés, Minoru Takata, and Detlev Schindler. *Journal of Clinical Investigation* J Clin Invest. 2017 Aug 1;127(8):3013-3027.
2. *RFWD3*-mediated ubiquitination promotes timely removal of both RPA and *RAD51* from DNA damage sites to facilitate homologous recombination. Shojiro Inano, Koichi Sato, Yoko Katsuki, Wataru Kobayashi, Hiroki Tanaka, Kazuhiro Nakajima, Shinichiro Nakada, Hiroyuki Miyoshi, Kerstin Knies, Akifumi Takaori-Kondo, Detlev Schindler, Masamichi Ishiai, Hitoshi Kurumizaka, Minoru Takata. *Mol Cell*. 2017 Jun 1;66(5):622-634.e8.
3. Mutations in the Gene Encoding the E2 Conjugating Enzyme *UBE2T* Cause Fanconi Anemia. Hira A, Yoshida K, Sato K, Okuno Y, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Shimamoto A, Tahara H, Ito E, Kojima S, Kurumizaka H, Ogawa S, Takata M, Yabe H, Yabe M. *Am J Hum Genet*. 2015 Jun 4;96(6):1001-7.
4. *FANCD2* Binds CtIP and Regulates DNA-End Resection during DNA Interstrand Crosslink Repair. Unno J, Itaya A, Taoka M, Sato K, Tomida J, Sakai W, Sugawara K, Ishiai M, Ikura T, Isobe T, Kurumizaka H, Takata M. *Cell Rep*. 2014 Apr 30. pii: S2211-1247(14)00292-7.
5. Variant *ALDH2* is associated with accelerated progression of bone marrow failure in Japanese Fanconi anemia patients. Hira A, Yabe H, Yoshida K, Okuno Y, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Nakamura J, Kojima S, Ogawa S, Matsuo K, Takata M, Yabe M. *Blood*. 2013 Oct 31;122(18):3206-9.
6. Ishiai M, Kitao H, Smogorzewska A, Tomida J, Kinomura A, Uchida E, Saberi A, Kinoshita E, Kinoshita-Kikuta E, Koike T, Tashiro S, Elledge SJ, & Takata M. *FANCI* phosphorylation functions as a molecular switch to turn on the Fanconi anemia pathway. *Nat Struct Mol Biol*. 2008 Nov;15(11):1138-46.

悪性固形腫瘍（固形がん）内部の微小環境は極めて多様で、腫瘍血管からの距離に応じて酸素、栄養素、pHの分布が大きく異なることが知られています。腫瘍内微小環境に対する細胞の適応応答機構が、がんの放射線抵抗性や悪性形質を誘導することが報告されていますが、そのメカニズムは解明されていません。このような状況下、私達は低酸素誘導性転写因子HIF-1に着目し、がん細胞の環境応答と悪性化を担う遺伝子ネットワークを同定すること、そして得られた知見を新たな治療法の確立に繋げることを目指して研究を進めています。また、放射線高感受性遺伝病原因遺伝子として同定されたNBS1, MRE11, ATMによる放射線・ストレス応答の制御と、その破綻によるゲノム不安定性ならびに疾病誘発機構の解明を目指して研究を進めています。

■ 研究・教育について

がん細胞の放射線抵抗性・悪性形質・低酸素適応応答を担う新規遺伝子のスクリーニング研究のほか、同定した遺伝子の作用メカニズムと機能を解明する分子細胞生物学研究、さらには、同定した遺伝子を治療標的として活用する創薬研究などを進めています。また、放射線治療や化学療法に抵抗性を示すがん細胞の腫瘍内局在と動態に迫るイメージング研究を通して、がん治療の高精度化に資する生物学的情報の収集に努めています。遺伝子、培養細胞、マウス、ヒト臨床検体を対象にした日々の研究活動を通じて、次代を切り拓くがん研究者を育成します。また、放射線高感受性遺伝病原因遺伝子NBS1, MRE11を中心とした機能的ネットワークの解明や、低線量放射線の生体影響の解明を通じて、放射線生物学的な視点から生命の本質を考え、培った知識を社会へ還元できる大学院生、研究者の育成を目指しています。

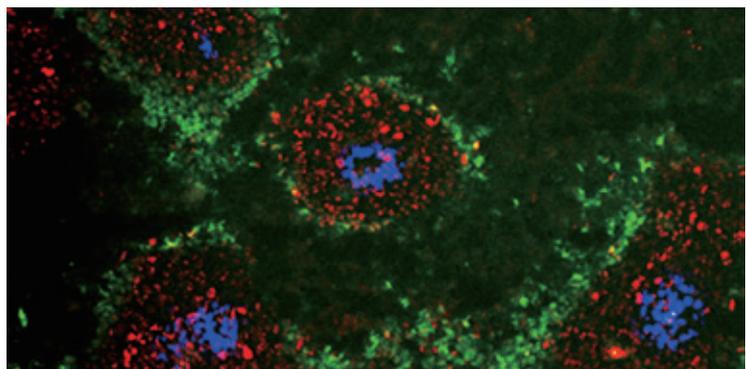
放射線生物研究センター  
ゲノム動態研究部門

教授：原田 浩  
准教授：小林 純也  
研究員：小林 稔、子安 翔、  
斎藤裕一朗

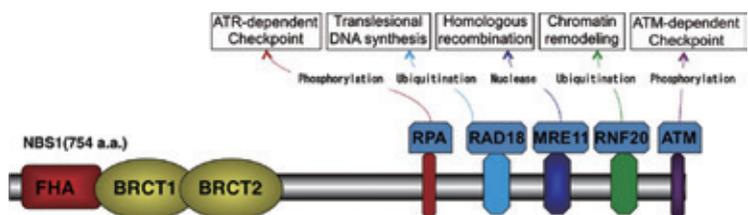
TEL : 075-753-7560  
FAX : 075-753-7564  
e-mail : harada.hiroshi.5e@kyoto-u.ac.jp  
URL : http://www.rbc.kyoto-u.ac.jp/cancer\_biology/

①悪性腫瘍内の微小環境

(血管遠位[青]の低酸素がん細胞[緑]は、放射線障害[赤]を受けにくい)



②NBS1の一次構造



■ 研究業績

- Goto Y, Koyasu S, Kobayashi M, Harada H. The emerging roles of the ubiquitination/deubiquitination system in tumor radioresistance: Insight into the development of novel radiosensitizing strategies. *Mutation Res.* in press.
- Nakashima R, Goto Y, Koyasu S, Kobayashi M, Morinibu A, Yoshimura M, Hiraoka M, Hammond EM, Harada H. UCHL1-HIF-1 axis-mediated antioxidant property of cancer cells as a therapeutic target for radiosensitization. *Sci Rep.* 7:6879. 2017.
- Yeom CJ, Zeng L, Goto Y, Morinibu A, Zhu Y, Shinomiya K, Kobayashi M, Itasaka S, Yoshimura M, HurCG, Kakeya H, Hammond EM, Hiraoka M, Harada H. LY6E: a conductor of malignant tumor growth through modulation of the PTEN/PI3K/Akt/HIF-1 axis. *Oncotarget.* 11670. 2016.
- Goto Y, Zeng L, Yeom CJ, Zhu Y, Morinibu A, Shinomiya K, Kobayashi M, Hirota K, Itasaka S, Yoshimura M, Tanimoto K, Torii M, Sowa T, Menju T, Sonobe M, Kakeya H, Toi M, Date H, Hammond EM, Hiraoka M, Harada H. UCHL1 provides diagnostic and antimetastatic strategies due to its deubiquitinating effect on HIF-1  $\alpha$ . *Nat Commun.* 6: 6153.2015.
- Harada H, Inoue M, Itasaka S, Hirota K, Morinibu A, Shinomiya K, Zeng L, Ou G, Zhu Y, Yoshimura M, McKenna WG, Muschel RJ, Hiraoka M. Cancer cells that survive radiation therapy acquire HIF-1 activity and translocate towards tumour blood vessels. *Nat Commun.* 3: 783. 2012.
- Yanagihara H, Kobayashi J, Tateishi S, Kato A, Matsuura S, Tauchi H, Yamada K, Takezawa J, Sugawara K, Masutani C, Hanaoka F, Weemaes CM, Mori T, Zou L, Komatsu K. NBS1 recruits RAD18 via a RAD6-like domain and regulates Pol  $\eta$ -dependent translesion DNA synthesis. *Mol Cell.* 43:788-797. 2011.

平成28年度 共同利用採択課題

	研究課題	氏名	所属	掲載ページ
1	ショウジョウバエにおけるゲノムストレス応答機構の研究 Response for DNA damage in Drosophila melanogaster	川崎 勝己	摂南大学・理工	P12
2	骨髄キメラモデルを用いた肩腱板修復における骨髄由来幹細胞の分化の解明 A Differentiation Analysis of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells after Rotator Cuff Repair by Using Bone Marrow Chimeric Rat	森原 徹	京都府立医科大学・整形外科	P13
3	NBS1が関与する放射線DNA二重鎖切断修復過程の解析 Analysis of NBS1 function for DNA double strand break repair	田内 広	茨城大学・理学部	P14
4	放射線高感受性細胞を用いた低線量放射線によるミトコンドリアへの影響解析 Effect of low doses of ionizing radiation on mitochondrial function in radiosensitive cell lines	志村 勉	国立保健医療科学院	P15
5	メダカ種内多型を利用したNbs1非同義SNPsによるNbs1の機能変化の解析 The analysis on the effect of non-synonymous SNPs in medaka Nbs1 on DSB repair function of Nbs1	三谷 啓志	東京大学・新領域	P16
6	紫外線によるDNA損傷修復に関与するヒストンアセチル化酵素の解析 Analysis of histone acetyltransferases involved in repair of UV-induced DNA damage	丹伊田 浩行	浜松医科大学・医	P18
7	ヒトリンパ細胞株を用いた相同DNA組み換え機構の解析 Analysis of DNA damage response using the human TK6 cell line	武田 俊一	京大・医	P19
8	T細胞の発生と分化に関する研究 Development and differentiation of T cells	濱崎 洋子	京大・医	
9	NHEJ欠損細胞を用いた低線量率放射線照射下におけるDNA損傷蓄積性の解析 Analysis of the accumulation of DNA damage in NHEJ-defective cells under low dose-rate irradiation conditions	富田 雅典	電中研・原子力技術研	P21
10	免疫細胞活性化機構の解析 Analysis of the molecular mechanisms of lymphocyte activation	清水 章	京大・医病	
11	ヒト樹状細胞の機能解析 Analysis of human dendritic cell functions	北脇 年雄	京大・医	

	研究課題	氏名	所属	掲載ページ
12	胚中心B細胞形成におけるオステオポンチンの作用機序 Role of osteopontin in formation of germinal center B cell	服部 雅一	京大・医	P23
13	造血幹細胞のin vivoにおける増殖・分化機構の解析 Analysis of the mechanisms on the proliferation and differentiation of hematopoietic stem cells in vivo	伊藤 克彦	京大・医	
14	内在性レトロエレメントLINE-1とDNA二重鎖切断の相互作用に関する研究 Functional interaction of LINE-1 and DNA double strand breaks	飯島 健太	国際医療研究センター	P24
15	プロテアソームとその関連因子によるゲノム維持機構の解明 Maintenance of the genome integrity by the proteasome and its related factors	武田 鋼二郎	甲南大学・理工	P26
16	DNA二本鎖切断修復系の重複制御機構 Dual regulation of DNA double strand break repair system	井原 誠	長崎大学・原爆後障害医療研	P27
17	ヌクレオチド除去修復因子の生細胞内動態制御機構の解析 Studies on regulation of in vivo dynamics of nucleotide excision repair factors	菅澤 薫	神戸大学・バイオシグナル研究センター	P28
18	放射線照射による血清除去誘導細胞死の抑制機構の解析 Analysis of suppression mechanism of serum removal-induced cell death by irradiation	加藤 真介	横浜薬科大学	P29
19	植物のDNA損傷応答の解析 Research for DNA damage response in plants	梅田 正明	奈良先端大学バイオサイエンス	P31
20	DNA損傷応答におけるセントロメアタンパク質の役割 Analysis of the roles of centromeric proteins in DNA damage responses.	舛本 寛	かずさDNA研究所	P32
21	放射線適応応答誘導の線量率依存性と誘導シグナルの解明 Analysis of dose-rate dependency and the mechanism of the induction of radioadaptive response	立花 章	茨城大学・理	P33
22	放射線発がん過程における細胞組織応答解析 Analysis of multiple cellular responses during radiation-induced tumorigenesis	中村 麻子	茨城大学・理	P34

	研究課題	氏名	所属	掲載ページ
23	放射線照射によるRNA編集の多様性に関する研究 Studies of RNA diversities via RNA editing by irradiation	倉岡 功	大阪大学・基礎工	P35
24	ファンconi貧血経路によるRAD51フィラメント安定化活性のDNA修復における役割 Analysis of RAD51 nucleoprotein filament stabilization by Fanconi anemia proteins	胡桃坂 仁志	早稲田大学・理工	P36
25	RNF8により制御される非典型的DNA修復機構の解析 Analysis of non-canonical DNA repair pathway regulated by RNF8	中田 慎一郎	大阪大学・医	P37
26	がん遺伝子過剰発現と放射線照射による複製異常と全ゲノムCNVs/Indelとの比較解析	香崎 正宙	産業医科大学	P38
27	ヒト多能性幹細胞におけるゲノム安定性維持機構の解析 Analysis of the mechanism of the maintenance of genome integrity in Human pluripotent stem cells	黒沢 綾	群馬大学・理工学 府	P39
28	核内構造体によるDNA二重鎖切断修復の制御機構解明 Revealing regulatory mechanism of DNA double-strand breaks repair mediated by nuclear architectures	西 良太郎	立命館大学	P40
29	放射線応答における酸化ストレス防御因子の役割 The role of oxidative stress defense factors in radiation response	秋山 秋梅	京大・理	
30	末梢神経損傷により脊髄内移行する免疫系細胞による神経障害性疼痛の発症機序の解明 Mechanisms underlying the infiltration of peripheral immune cells into the spinal cord in peripheral nerve injury-induced neuropathic pain	白川 久志	京大・薬	
31	非相同末端結合によるDNA二重鎖切断修復機構の解明 Molecular Mechanisms of DNA Double-Strand Break Repair Through Non-Homologous End Joining	松本 義久	東京工業大学・原子炉実験所	P41
32	ゲノム修復におけるRAD51蛋白質複合体の機能解析 Functional analysis of RAD51 protein complex in DNA repair	田代 聡	広大学・原医研	P42
33	コムギの開花期を決定する遺伝子のRadiation Hybrid mapping Radiation Hybrid mapping of a gene determining flowering-time in wheat	那須田 周平	京大・国際高等教育院(併任:農学研究科)	

	研究課題	氏名	所属	掲載ページ
34	マウス抗原提示細胞による免疫エフェクター細胞の活性化調節機構の解析 Antigen presenting cells controlling immune response	高原 和彦	京大・生命科学研究所	P43
35	microRNA を標的とした新規ドラッグ・デリバリー・システムの開発 Development of drug delivery system for targeting circulating microRNA	山吉 麻子	京大・白眉センター	P44
36	細胞老化の視点からみた長期培養ラット心筋細胞の機能解析 Cellular senescence in long-term cultured cardiomyocytes	石川 冬木	京大・生命	P45
37	ラット肺移植モデルにおけるMixed Lymphoid reaction の確立 Establishment of Mixed Lymphoid reaction in the rat lung transolantaion model	陳 豊史	京大・医病	
38	もやもや病感受性遺伝子RNF213のシグナリング経路の解明 Analysis of signaling pathway of Moyamoya disease susceptibility gene RNF213	Shohab Youssefian	京大・医	P46
39	DNA修復におけるヒドロキシメチルシトシン蓄積の解明 Characterization of 5-hydroxymethylcytosine enrichment during DNA repair.	CARLTON Peter	京大・生命	
40	低酸素環境に対する分節時計遺伝子の応答 Response of the segmentation genes of hypoxia	影山 龍一郎	京大・ウイルス研	
41	酵母染色体構築における分子機構の解明 Analysis of the molecular mechanism of chromosome assembly in yeast	高山 優子	帝京大学・理工学部	P47
42	放射線・ゲノムストレスに対するヒト血管内皮細胞のテロメア安定性 The effect of radiation ar genomic stresses to telomere stability in HUVEC cells	阿武 久美子	広島文教女子大学	P48
43	DNA損傷トランスにおけるユビキチンシステムの役割 Roles of ubiquitination systems in DNA damage tolerance	益谷 央豪	名古屋大学・環境医学研究所	P49

研究題目	ショウジョウバエにおけるゲノムストレス応答機構の研究		
研究代表者	氏名	所属	職名
	川崎 勝己	摂南大 理工	教授
研究協力者			
所内連絡者	小林 純也	放射線生物研究センター	
研究概要	<p>(1) 生殖幹細胞において、どのような放射線・化学物質が影響するかについてはよく分かっていないし、放射線・化学物質に対し生殖幹細胞がどのように応答するかについても不明である。私たちが研究している RecQ5 はゲノム安定性維持に関わり、生殖幹細胞で特異的に発現していることがわかった。本研究は環境からのストレス（放射線・化学物質）の生殖幹細胞への影響を解析し、RecQ5 を切り口に生殖幹細胞での放射線・化学物質に対するゲノム安定性の分子機構を明らかにすることを目的とする。</p> <p>(2) RecQ5 は良く保存された RecQ DNA ヘリカーゼであり(Jeong et al (2000) Mol. Gen. Genet. 263, 183-193, Kawasaki et al (2002) Nucleic Acids Res. 30, 3682-3691)、ヒトでは他に RecQL1, BLM, WRN, RTS、と 4 種あり、後者の 3 つはそれぞれの変異がブルーム症候群、ワーナー症候群、ロスマント・トムソン症候群の原因となる。これら 3 種の変異に共通するのは、ガンになりやすくゲノムが不安定になることである。したがって (1) RecQ5 タンパク質の挙動を可視化する為に enhanced green fluorescent protein (EGFP) を融合した RecQ5 を発現するトランスジェニックハエを用いて、精巣での EGFP-RecQ5 の局在を共焦点顕微鏡により観察した。RecQ5 は精巣において、生殖幹細胞、精原細胞、未熟な第一精母細胞の核に特異的に局在し、それ以外の生殖細胞や体細胞にはみられなかった。</p> <p>(2) 次に、recq5 欠損精巣と正常精巣とを比較した。その結果、recq5 欠損精巣では、先端部の肥大が有意にみられた。</p> <p>(3) recq5 欠損精巣では、成熟した第一精母細胞の蓄積がみられた。(4) recq5 欠損精巣内には、正常精巣内とくらべて位相差像で区別できる構造物(cystic bulge および waste bag)が多く観察され、かつ発達していた。また、活性型カスパーゼを含む顆粒状の構造物も同様の傾向を示した。カスパーゼが活性化されている可能性が高い。</p> <p>(5) 正常精巣内とくらべて、精細胞から精子への細胞骨格再編を示す構造物 elongation cone が recq5 欠損精巣内には、多く観察された。</p> <p>(6) recq5 欠損精巣内でも精細胞から精子への伸長自体は正常精巣と同様に起きているようであった。また、recq5 欠損株が生殖に問題がないことも正常な精子形成産出を支持する。</p> <p>ショウジョウバエ RecQ5 が雄性生殖細胞、精原細胞、未熟な第一精母細胞の核に局在し、recq5 欠損精巣でこれらの細胞から成熟した第一精母細胞の蓄積がみられたことや精子形成過程途中の中間体として生じる構造物 (elongation cone, cystic bulge および waste bag) がより高頻度で観察されたことは recq5 欠損精巣において精子形成の分化は進行しているものの不適切な精子が確率的に生じている可能性や開始から終了までのどこかで精子形成の分化進行過程がゆっくりとなっている可能性、また確率的に生じるかもしれない不適切な精子を排除するような過程が活性化している可能性などがある。</p> <p>以上のことから、RecQ5 は精巣において正常な精子形成の分化進行に重要であると考えている。</p>		
研究発表	<p>〈論文発表、学会発表〉</p> <p>1. 小椋裕司、高井理、干場和貴、文殊宏平、筒井翔太、桜井(田代)晴奈、伊藤文昭、川崎勝己 生殖細胞における RecQ5 について 日本薬学会第 137 回年会 2017 年 3 月 25 日 仙台国際センター／東北大学川内キャンパス (仙台)</p>		

研究題目	骨髄キメラモデルを用いた肩腱板修復における骨髄由来幹細胞の分化の解明		
研究代表者	氏名	所属	職名
	森原 徹	京都府立医科大学運動器機能再生外科学（整形外科）	准教授
研究協力者	仲川 春彦	舞鶴赤十字病院	副部長
	木田 圭重	京都府立医科大学運動器機能再生外科学（整形外科）	助教
	祐成 毅	西陣病院	医長
	加太 佑吉	京都府立医科大学運動器機能再生外科学（整形外科）	医員
所内連絡者	小林 純也	放射線生物研究センター	准教授
研究概要	<p>平成 28 年度は、SD ラットに対して腱板修復のみ行った群、上腕骨大結節に穿孔を加えた群および上腕骨大結節に軟骨搔爬を加えた群の 3 つの群における力学的強度を比較した。論文を投稿し accept した。</p> <p>引き続き末梢血に骨髄由来細胞を動員させる作用をもつ G-CSF を腱板修復術に用いて腱板修復促進効果と骨髄由来細胞の誘導効果の検討を行っている。</p>		
研究発表	<p>〈論文発表〉</p> <p>1. Effect of Footprint Preparation on Tendon-to-Bone Healing: A Histologic and Biomechanical Study In a Rat Rotator Cuff Repair Model. Arthroscopy Epub ahead of print</p> <p>〈学会発表〉</p> <p>1. G-CSF 刺激による肩腱板修復効果の検討，第 31 回日本整形外科学会基礎学術集会，福岡，2016 年 10 月 14 日</p>		

研究題目	NBS1 が関与する放射線 DNA 二重鎖切断修復過程の解析		
研究代表者	氏名	所属	職名
	田内 広	茨城大学理学部	教授
研究協力者	坂本裕貴	茨城大学大学院	院生 (D3)
所内連絡者	小林純也	放射線生物研究センター	
研究概要	<p>ナイミーヘン症候群 (NBS) の発症に関わる NBS1 タンパク質は、RAD50 および MRE11 と MRN 複合体を形成して DNA 二重鎖切断修復における末端のつなぎ留めと末端プロセシングに関わっており、特に相同組換え修復において重要な役割を担っていることが知られている。本研究では、1) 高頻度で相同組換えを示すニトリ B 細胞株 DT40 を用いて Nbs1 と他の修復遺伝子とのダブルノックアウト細胞を樹立し、その表現型解析を通じて、NBS1 が機能している DNA 損傷修復過程の詳細や相互作用を明らかにすること、2) NBS1 タンパク質の機能ドメインと DNA 修復効率や放射線感受性との関係を解明すること、の2点に主眼を置いている。</p> <p>これまでの研究で、DT40 細胞を用いた Nbs1/Ku70 ダブルノックアウト細胞は、それぞれのシングルノックアウト細胞よりも放射線高感受性である一方、中性コメットアッセイの結果から、速度は遅いものの放射線で生じた DNA 二重鎖切断 (DSB) の再結合は維持していることがわかっている。また、昨年度までに Nbs1、Ku70、および Rad54 のノックアウト細胞ならびにそれらのダブルノックアウト細胞を用いて、放射線で生じた DSB 修復における損傷応答シグナルの役割に着目した研究を行い、様々な修復欠損細胞における DSB 再結合のカイネティクスを解析しているが、今年度はさらに損傷応答シグナルとの関係を解析した。これらの成果については、論文としてまとめる準備を進めているところである。これに加えて、DSB によって引き起こされる体細胞突然変異における NBS1 タンパク質機能との関係に関する解析も継続して実施した。その結果、NBS1 を含む MRN 複合体の機能が DSB によって誘発される体細胞突然変異の誘発効率と変異の質に深く関わっていることがより明確となった。さらに詳細な分子機構を明らかにするために変異 NBS1 を用いた解析の準備を始めており、今後はこの実験を中心に継続する予定である。</p>		
研究発表	<p>〈学会発表〉</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>小摩木里奈、小林穂波、坂本敬祥、小林健太、本田千明、布施谷清香、飯島健太、小林純也、小松賢志、田内 広：部位特異的 DSB で誘発される体細胞突然変異における修復機構の役割。日本放射線影響学会第 59 回大会 (広島) 2016.10.26</li> <li>小林穂波、小林健太、坂本敬祥、小摩木里奈、布施谷清香、小松賢志、小林純也、田内 広：DNA 二重鎖切断が誘発する体細胞突然変異における NBS1 機能の役割。第 39 回日本分子生物学会年会 (横浜) 2016.12.1</li> </ol>		

研究題目	放射線高感受性細胞を用いた低線量放射線によるミトコンドリアへの影響解析		
研究代表者	氏名	所属	職名
	志村 勉	国立保健医療科学院	上席主任研究官
所内連絡者	小林 純也	放射線生物研究センター	准教授
研究概要	<p>福島原発事故以降、長期の低線量放射線被ばくによる健康への悪影響、特に放射線の晩発性の身体的影響としての発がんが懸念されている。しかし、低線量・低線量率の放射線影響については未解明な部分が多く、その評価の元となるデータ自体が乏しいのが現状である。放射線は、核 DNA と同様にエネルギー代謝を制御するミトコンドリアの DNA に損傷を誘導する。このことから、ミトコンドリアは、放射線の標的器官と考えられている。発がんには、ミトコンドリアの機能低下による代謝異常が関与するため、放射線発がんにおいてもミトコンドリアは重要な役割を持つことが示唆される。これまでヒト正常線維芽細胞 MRC5, TIG-3 を用いたミトコンドリアの放射線影響の解析から、0.01 Gy または 0.05 Gy の X 線を 1 日 2 回で 1 月間の長期低線量放射線照射では、細胞内の抗酸化物質グルタチオン量の減少と活性酸素量の増加により、活性酸素の発生源であるミトコンドリアに酸化損傷を誘導することを明らかにした。</p> <p>本研究では、放射線照射後の核 DNA 損傷とミトコンドリア損傷との関わりを明らかにするため、DNA 損傷のセンサーである ataxia telangiectasia mutated (ATM) の欠損線維芽細胞を用いて解析を行った。ATM 欠損細胞では、放射線照射後のミトコンドリア量の増加やミトコンドリアのオートファジー（マイトファジー）が誘導されない。このため、ミトコンドリアの質を維持することが出来ず、細胞死が誘導され、放射線に高感受性を示すことを明らかにした。以上の結果から、ATM は、DNA 損傷応答とミトコンドリアの放射線応答の両方に関与し、放射線照射後の細胞の運命の決定に重要な役割を担うことを明らかにした。</p>		
研究発表	<p>〈論文発表〉</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Shimura T, Sasatani M, Kawai H, Kamiya K, Kobayashi J, Komatsu K, Kunugita N. A comparison of radiation-induced mitochondrial damage between neural progenitor stem cells and differentiated cells. <i>Cell Cycle</i>. 16 (6): 565-573, 2017.</li> <li>2. Shimura T. Targeting the AKT/cyclin D1 pathway to overcome intrinsic and acquired radioresistance of tumors for effective radiotherapy. <i>Int J Radiat Biol</i>. 93 (4): 381-38, 2016.</li> </ol> <p>〈学会発表〉</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Shimura T, Sasatani M, Kawai H, Kamiya K and Kunugita N. A comparison of radiation-induced mitochondrial damage between neural progenitor stem cells and differentiated cells. The 1st international symposium of the network-type joint usage/research center for radiation disaster medical science –Scientific underpinning for restoration from a radiation disaster; 2017.2. p.59.</li> <li>2. Shimura T, Kobayashi J, Komatsu K, Kunugita N. Mitochondrial DNA damage responses in ATM- and NBS1-deficient cells. 第 59 回日本放射線影響学会 ; 2016.10. P.23</li> <li>3. 志村 勉、笹谷 めぐみ、河合 秀彦、神谷 研二、櫻田 尚樹. 低線量長期放射線照射におけるミトコンドリア由来活性酸素の蓄積と酸化ストレスによる細胞周期制御機構への影響. 第 59 回日本放射線影響学会 ; 2016.10. P.24</li> </ol>		

研究題目	メダカ種内多型を利用した Nbs1 非同義 SNPs による Nbs1 の機能変化の解析		
研究代表者	氏名	所属	職名
	三谷啓志	東大・院・新領域	教授
研究協力者	五十嵐健人	東大・院・新領域	院生
所内連絡者	小林純也	放射線生物研究センター	准教授

研究概要

本研究ではメダカの種内多型を利用して DSB 修復遺伝子の多型と放射線感受性との関連を明らかにすることを目指した。我々はアミノ酸配列に基づきメダカ Nbs1 上の種内多型 Q170H はヒト NBS1 の多型サイトである Q185E と対応することを見出した。ヒト NBS1 Q185E はがんなどの罹患リスク低下と関連することが報告されており (Berardinelli et al., 2013)、メダカ Nbs1 における Q170 残基も Nbs1 の機能上重要であると予想した。これまで olNbs1(H170)-Venus を過剰発現する細胞では olNbs1(Q170)-Venus を過剰発現する細胞と比べ、より多くの Venus タンパク質がレーザー照射により核内局所に生成した DSB 領域に集積し、また olNbs1(H170)-Venus 過剰発現細胞ではリン酸化 DNA-PKcs フォーカス (pT2609) の減少と DSB 修復の遅延をもたらすことを明らかにした (Igarashi et al., 2017)。DNA-PKcs T2609 残基を含む ABCDE クラスターがリン酸化を受けると、NHEJ あるいは HR 経路に関わる因子の DSB 末端へのリクルートが促されることが知られている (Meek et al., 2008) これまで olNbs1(H170)を過剰発現する細胞においてリン酸化 DNA-PKcs フォーカスの減少が DSB 修復の遅延をもたらす主たる原因であるかは不明であった。そこで DNA-PK キナーゼドメイン直前に R3715X 変異をもつ DNA-PK 欠損メダカ胚より培養細胞 (DNA-PK 欠損細胞) を樹立し、 $\gamma$ -H2AX フォーカス数をもとに修復能を評価した。野生型細胞ではガンマ線 5Gy 照射 30 分後から 6 時間後にかけて  $\gamma$ -H2AX フォーカスが減少したのに対し、DNA-PK 欠損細胞は  $\gamma$ -H2AX フォーカスが減少せず、DSB 修復能の低下を示した。DNA-PK 欠損細胞において olNbs1(Q170)-Venus を過剰発現させた場合は、ガンマ線 5Gy 照射 30 分後から 6 時間後にかけて  $\gamma$ -H2AX フォーカスが減少しており、過剰発現した olNbs1(Q170)によって修復が補完されているものと考えられた。これに対し、DNA-PK 欠損細胞において olNbs1(H170)-Venus を過剰発現させた場合には、ガンマ線 5Gy 照射 30 分後から 6 時間後にかけて  $\gamma$ -H2AX フォーカスの減少はみられておらず、olNbs1(H170)の過剰発現は DNA-PK のキナーゼ活性喪失による修復能の低下を相補しないと考えられ、olNbs1(H170)が DNA-PK のキナーゼ活性に依存しない修復経路の阻害を介した DSB 修復の遅延を引き起こすことが示唆された。

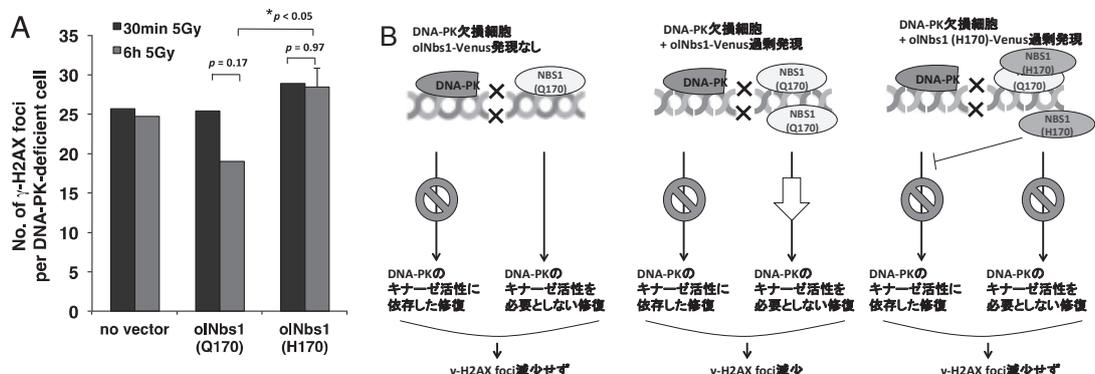


図. olNbs1(Q170)-Venus あるいは olNbs1(H170)-Venus を過剰発現する DNA-PK 欠損細胞の DSB 修復能の解析。(A)ガンマ線 5Gy 照射 30 分後及び 6 時間後における、olNbs1(Q170)-Venus あるいは olNbs1(H170)-Venus を過剰発現する DNA-PK 欠損細胞の  $\gamma$ -H2AX フォーカス数。olNbs1-Venus 発現ベクターを導入しない細胞を no vector として示した。(B)(A)

	で示した各細胞における DSB 修復のモデル図。
研究発表	<p>&lt;論文発表&gt;</p> <p>Igarashi Kento, Kobayashi Junya, Katsumura Takafumi, Urushihara Yusuke, Hida Kyohei, Watanabe-Asaka Tomomi, Oota Hiroki, Oda Shoji and Mitani Hiroshi. An Approach to Elucidate NBS1 Function in DNA Repair Using Frequent Nonsynonymous Polymorphism in Wild Medaka (<i>Oryzias latipes</i>) Populations. PLoS One. 12: e0170006. (2017)</p> <p>&lt;学会発表&gt;</p> <p>五十嵐健人、小林純也、勝村啓史、漆原佑介、飛田恭平、浅香智美、尾田正二、太田博樹、三谷啓志、メダカ(<i>Oryzias latipes</i>)東韓集団では DSB 修復に遅延をもたらす Q170H 多型が高頻度に分布する、日本 分子生物学会、横浜、2016 年 11 月</p>

研究題目	紫外線による DNA 損傷修復に関与するヒストンアセチル化酵素の解析		
研究代表者	氏名	所属	職名
	丹伊田 浩行	浜松医科大学	准教授
研究協力者	茂木 章	京都大学	助教
所内連絡者	高田 穰	放射線生物研究センター	教授
研究概要	<p>我々の身体をつくる細胞は日々外的、内的 DNA 損傷に曝されている。紫外線は最も日常的に暴露される DNA 損傷刺激であり DNA にシクロブタン型ピリミジンダイマー (CPD) や 6-4 光産物 (6-4PP) といった損傷を与える。CPD や 6-4PP を修復する修復経路としてヌクレオチド除去修復 (NER) がある。NER 因子の遺伝的欠損は紫外線過敏症や皮膚癌を効率で発症する原因となる。これら遺伝的欠損の解析により NER に関与するコア因子が同定され試験管内においてその修復経路は再構築されている。しかしながら細胞内において NER が効率よく働くためにクロマチンの動的環境を制御する機能が必須であるがその全容は未だ明らかにされていない。我々は HBO1 というヒストンアセチルトランスフェラーゼに注目し NER との関連を調べている。HBO1 は紫外線照射後に ATR 依存的にリン酸化され、NER 因子である DDB2 と結合することを明らかにしている (Matsunuma et al. Mol. Cell Biol., 2015)。このため HBO1 が NER が機能するために必要とされるのではないかと考えて機能解析を行った。その結果 HBO1 は紫外線照射により発生した CPD 近傍に局在し、ヒストン H3, H4 をアセチル化すること、そのアセチル化がクロマチンリモデリング因子のリクルートを促進することなどを示す結果を得、論文としてまとめた (Niida et al. Nature Communications, In press)。共同研究者の茂木はこの研究において放射線およびマイトマイシン C 刺激に対する HBO1 の影響を解析している。本研究課題ではさらに細胞内 NER 関連因子を同定する目的で放生研所有の siRNA library を使用して screening をセットアップしている。予備実験において NER 因子である XPC を 96 well plate に培養した HeLa 細胞に transfection した結果、有意な CPD 除去の欠損を確認することが出来た。多検体の siRNA を効率よく screening するため IN CELL analyzer を利用し解析の条件などをセットアップするなど今後検討して行きたい。</p>		
研究発表	<p>〈論文発表〉  1. Niida et al. Nature Communications, In press)  (学会発表)  1. 第 39 回日本分子生物学会年会 Workshop 発表 (パシフィコ横浜)</p>		

研究題目	ヒト B リンパ細胞株を用いた相同 DNA 組み換え機構の解析		
研究代表者	氏名	所属	職名
	武田 俊一	京大・医・放射線遺伝学	教授
研究協力者	笹沼 博之	京大・医・放射線遺伝学	准教授
	茂木 章	京大・医・放射線遺伝学	助教
	津田 雅貴	京大・医・放射線遺伝学	特定助教
	Mohiuddin	京大・医・放射線遺伝学	研究員
	赤川 礼美	京大・医・放射線遺伝学	大学院生
	SAHA Liton Kumar	京大・医・放射線遺伝学	大学院生
	RAHMAN Md. Maminur	京大・医・放射線遺伝学	大学院生
	清水 翼	京大・医・放射線遺伝学	大学院生
	角田 圭	京大・理・生物科学	大学院生
	AKTER Salma	京大・医・放射線遺伝学	大学院生
	藤池 春奈	京大・理・生物科学	大学院生
所内連絡者	小林 純也	放射線生物研究センター	准教授
研究概要	<p><u>Mre11 の DNA 切断活性は、DNA 2 重鎖切断 5'末端からトポイソメラーゼ 2 を除去</u> トポイソメラーゼ 2 (Top2) は、2 本のもつれた 2 重鎖 DNA の一方に一過性に DNA 2 重鎖切断を作り、そこにもう一方の DNA を通過させることによって、そのもつれを解消する。DNA 2 重鎖切断の 5'末端には一過性に Top2 が共有結合する (Top2 cleavage complex (Top2cc)と呼ぶ)。我々は、Mre11 の DNA 切断活性をヒト TK6 B 細胞で欠損させると Top2cc が蓄積することを見出した(論文発表 1)。この蓄積が Mre11 欠損により染色体断裂が大量発生する原因であった。同様に Nbs1 が中枢神経細胞でのみ欠損したマウスでも、Top2cc が蓄積していた。この知見から、Top2 はその触媒反応中にしばしばミスをして DNA 2 重鎖切断を自然発生させると結論した。この DNA 2 重鎖切断の修復では、まず Mre11 が Top2 を DNA 切断端から除去し、次に非相同末端結合が修復する。</p> <p><u>RNF8 と HERC2 は、損傷乗越えを促進する</u> RNF8 と HERC2 は、ユビキチンリガーゼであり、DNA 2 重鎖切断の修復を促進することが知られている。これらの酵素の DNA damage tolerance (DDT)での役割は不明であった。解析が進まない理由は、哺乳動物細胞の DDT を適切に評価できる表現型解析手法が無いからである。ニワトリ DT40 B 細胞株は、培養中に 2 つの DDT 経路、損傷乗越えと鋳型スイッチにより抗体遺伝子可変領域を多様化する。この優位性を生かして、RNF8 と HERC2 の、DDT での役割を解析したところ、これらの酵素は損傷乗越えを促進することが明らかになった(論文発表 2)。これらの酵素の基質は解明できなかった。</p> <p><u>ヌクレオシドアナログの抗がん活性の作用機序を解析するバイオアッセイの構築</u> 抗がん活性の作用機序を包括的に解析できるバイオアッセイを構築した(論文発表 3)。Ara-C (シタラビン)は複製酵素に取込まれた後、その校正活性によって効率よく除去されることが解った。また予想外のことに、AZT のような抗ウイルス薬が染色体 DNA に効率よく取込まれ、鋳型鎖中に存在する AZT が 2 回目の DNA 複製を阻害す</p>		

	<p>ることも発見した。この研究は、津田助教と廣田教授（首都大学東京）との間の共同研究で遂行された。</p>
<p>研究発表</p>	<p>〈論文発表、学会発表〉</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Hoa NN, Shimizu T, Zhou ZW, Wang ZQ, Deshpande RA, Paull TT, Akter S, Tsuda M, Furuta R, Tsutsui K, Takeda S, Sasanuma H. (2016) Mre11 is essential for the removal of lethal Topoisomerase 2 covalent cleavage complexes. <i>Mol Cell</i>. 64 (3): 580-592.</li> <li>2. Mohiuddin, Kobayashi S, Keka IS, Guilbaud G, Sale J, Narita T, Abdel-Aziz HI, Wang X, Ogawa S, Sasanuma H, Chiu R, Oestergaard VH, Lisby M, Takeda S. (2016) The role of HERC2 and RNF8 ubiquitin E3 ligases in the promotion of translesion DNA synthesis in the chicken DT40 cell line. <i>DNA Repair (Amst)</i> 40: 67-76.</li> <li>3. Tsuda M, Terada K, Ooka M, Kobayashi K, Sasanuma H, Fujisawa R, Tsurimoto T, Yamamoto J, Iwai S, Kadoda K, Akagawa R, Huang SN, Pommier Y, Sale JE, Takeda S, Hirota K. (2017) The dominant role of proofreading exonuclease activity of replicative polymerase <math>\epsilon</math> in cellular tolerance to cytarabine (Ara-C). <i>Oncotarget</i> 8 (20): 33457-33474.</li> </ol>

研究題目	NHEJ 欠損細胞を用いた低線量率放射線照射下における DNA 損傷蓄積性の解析		
研究代表者	氏名	所属	職名
	富田 雅典	電力中央研究所 原子力技術研究所	上席研究員
研究協力者			
所内連絡者	小林 純也	放射線生物研究センター	准教授
研究概要	<p>高線量率放射線を照射した細胞の DNA に生じた DNA2 重鎖切断 (DSB) は、主に「相同組換え (HR)」と「非相同末端結合 (NHEJ)」によって修復される。「線量率効果」は、総線量が同じであっても、線量率を下げると亜致死障害 (SLD) が修復され、生物効果が低減される現象である。我々は、ニワトリ DT40 細胞を用いて作成された、さまざまな DSB 修復関連遺伝子欠損細胞を用いた研究から、低線量率放射線連続照射下では NHEJ の役割がより重要になり、NHEJ 関連遺伝子欠損細胞が高感受性を示すことを明らかにしている (Tomita <i>et al.</i> J. Radiat. Res. 2008)。</p> <p>本研究では、DNA Ligase IV に変異を持つ <i>Lig4</i><sup>Y288C</sup> マウス由来胎児線維芽細胞 (MEF) やさまざまな DNA 修復遺伝子を欠損したニワトリ DT40 細胞を用い、低線量率 <math>\gamma</math> 線照射下における DNA 損傷の蓄積性とそれに伴う細胞死・早期細胞老化などの解明を目的とする。</p> <p>DT40 細胞 (野生型細胞) と DT40 細胞由来の NHEJ に関与する Ku70、HR に関与する Rad54、および Ku70 と Rad54 をともに欠損した細胞に、0.1 Gy/h、0.01 Gy/h の <math>\gamma</math> 線を 0.5 Gy まで連続照射し、高線量率 X 線 (54 Gy/h) を 1 回照射した場合の細胞生存率と比較した (図 1)。その結果、<i>Ku70</i><sup>-/-</sup>細胞の <math>\gamma</math> 線 0.1 Gy/h 照射後の生存率は、高線量率 X 線照射後と変わりなく、0.01 Gy/h では若干生存率が回復したが、<i>Rad54</i><sup>-/-</sup><i>Ku70</i><sup>-/-</sup>細胞と比較して著しく低かった。一方、<i>Rad54</i><sup>-/-</sup><i>Ku70</i><sup>-/-</sup>細胞を高線量率 X 線照射した場合の生存率は、<i>Ku70</i><sup>-/-</sup>細胞と同レベルであったが、線量率が低くなるに従って生存率が回復する線量率効果を示した。野生型細胞、<i>Rad54</i><sup>-/-</sup>細胞では、高線量率 X 線照射後では生存率は低下したが、<math>\gamma</math> 線 0.1、0.01 Gy/h の照射では低下しなかった。これまでに、<i>Ku70</i><sup>-/-</sup>細胞は低線量率連続照射下で増殖率が著しく低下することを報告したが、本結果から <i>Ku70</i><sup>-/-</sup>細胞は細胞生存率も低く、線量率効果も起こりにくいことが示された。</p>		
	<p>図 1 線量率効果の比較 総線量は 0.5 Gy。照射後にメチルセルロース培地に播種し、コロニーを形成させ、細胞生存率を求めた。</p>		

SV40 で不死化した野生型 MEF と *Lig4*<sup>Y288C</sup> MEF に 0.1 Gy/h で  $\gamma$  線を連続照射した場合の細胞周期分布の変化を解析した結果を図 2,3 に示した。野生型 MEF では、照射により顕著な細胞周期分布の変化を示さなかった。一方、*Lig4*<sup>Y288C</sup> MEF は野生型 MEF と比較して非照射でも G2 期の細胞の割合が高いが、0.1 Gy/h の連続照射により G2 期に蓄積する細胞の割合が著しく増加した。これまでの DT40 細胞を用いた一連の研究から、*Ku70*<sup>-/-</sup>細胞でも同様に G2 期に細胞が蓄積する結果を得ており、低線量率連続照射下において、NHEJ 欠損細胞は DNA 損傷が修復できずに G2 期に蓄積することが確実となった。現在、ヒト *Lig4* 遺伝子を導入した *Lig4*<sup>Y288C</sup> MEF を用いた解析を進めている。

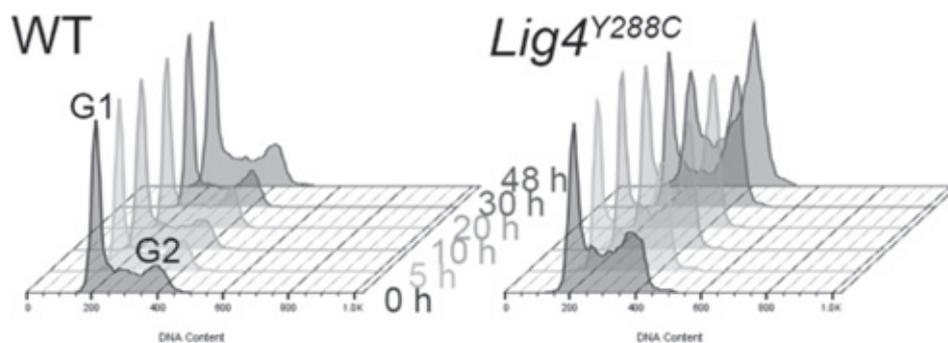


図 2 細胞周期分布の変化

SV40 で不死化した野生型 MEF、*Lig4*<sup>Y288C</sup> MEF を  $\gamma$  線 0.1 Gy/h で連続照射し、細胞周期分布の変化を解析した。

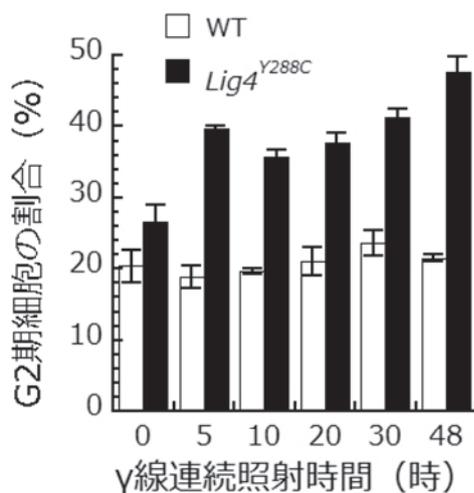


図 3 G2 期細胞の割合の変化

図 2 の結果より G2 期細胞の割合の変化を求めた。

研究発表

〈学会発表〉

1. 富田 雅典、小林 純也、大塚 健介、松本 義久、内海 博司「非相同末端結合欠損細胞が低線量率  $\gamma$  線に対して高感受性を示す機構の解析」第 39 回日本分子生物学会年会 (2016 年 12 月、横浜)
2. 富田 雅典、松本 義久、小林 純也、大塚 健介、藤通 有希、岩崎 利泰「低線量 (率) 放射線の生物影響研究における課題」日本放射線影響学会第 59 回大会 (2016 年 10 月、広島)
3. Masanori Tomita, Junya Kobayashi, Hiroshi Utsumi, Importance of Non-homologous End-joining under low dose-rate  $\gamma$ -ray irradiation condition The 42nd Annual Meeting of the European Radiation Research Society (2016 年 9 月、オランダ・アムステルダム)

研究題目	胚中心 B 細胞形成におけるオステオポンチンの作用機序		
研究代表者	氏名	所属	職名
	服部 雅一	AK プロジェクト 医学研究科	特定教授
研究協力者	伊藤 甲雄	AK プロジェクト	特定研究員
	福島 祐二	AK プロジェクト	特定研究員
	湊 長博	DSK プロジェクト	特命教授
所内連絡者	小林 純也	放射線生物研究センター	准教授
研究概要	<p>多機能を有する細胞外マトリックス蛋白であるオステオポンチン (OPN) は様々な炎症疾患への関与が示唆されている。生理学的条件においてその発現は骨や糸球体といった特定の臓器に限られているが、病態の進展に伴う細胞活性化が起こると OPN は様々な免疫系の細胞に発現されるようになる。今回、OPN-EGFP ノックインマウスを用いて、パイエル板、腸管粘膜固有層や腸管上皮といった小腸組織に局在する CD8<math>\alpha</math><sup>+</sup>T 細胞が定常状態において OPN を発現しているのを見いだした。そこで腸管ホメオスタシスにおけるこの OPN 発現 CD8<math>\alpha</math><sup>+</sup>T 細胞の役割について検討を行った。興味深いことに、OPN 遺伝子破壊マウスでは糞便中の微生物叢が変化しているとともに、TCR<math>\gamma\delta</math><sup>+</sup>腸管内リンパ球 (IEL) が減少していた。OPN 中和抗体の添加や OPN の欠損は試験管内における TCR<math>\gamma\delta</math><sup>+</sup>および TCR<math>\alpha\beta</math><sup>+</sup>IEL の生存を減少させた。これらの結果は、OPN が IEL の生存を補佐することで、腸内細菌叢のホメオスタシス維持に働いていることを示唆している。</p>		
研究発表	<p>〈論文発表〉  1. Ito K, Nakajima A, Fukushima Y, Suzuki K, Sakamoto K, Hamazaki Y, Ogasawara K, Minato N and <u>Hattori M</u>. The potential role of Osteopontin in the maintenance of commensal bacteria homeostasis in the intestine. <b>PLoS One</b> 12:e0173629, 2017.</p>		

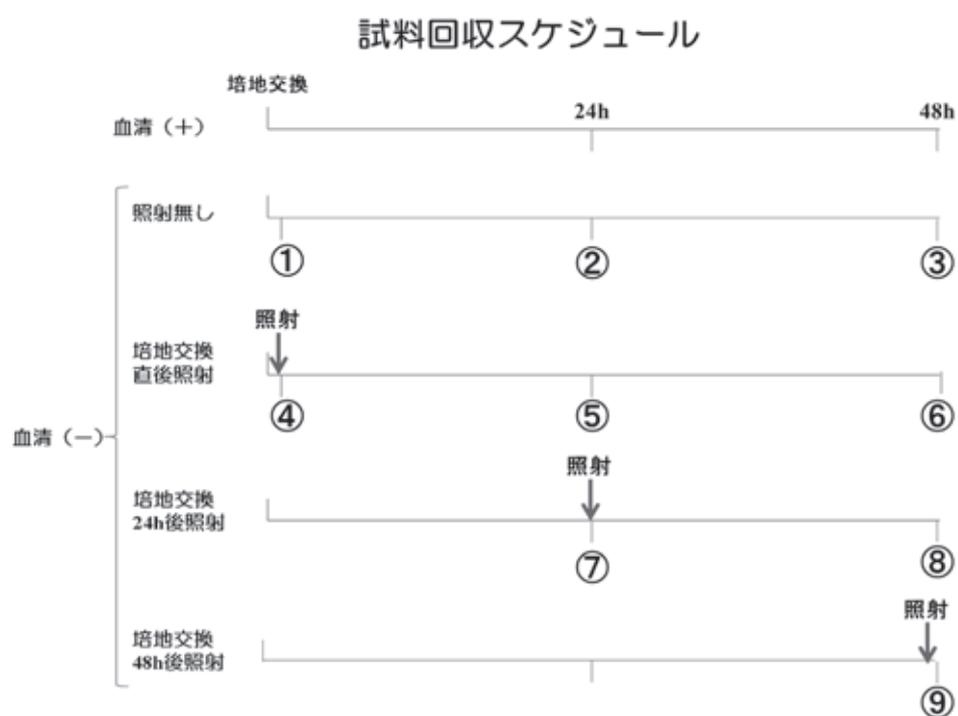
研究題目	内在性レトロエレメントLINE-1 とDNA 二重鎖切断の相互作用に関する研究		
研究代表者	氏名	所属	職名
	飯島健太	国立国際医療研究センター・ 難治性疾患研究部	上級研究員
研究協力者	石坂幸人	同上	研究部部长・副所長
所内連絡者	小林 純也	放射線生物研究センター	准教授
研究概要	<p>内在性レトロエレメントの1つである LINE-1 の動きは発がんプロセスにおいて促進され、ゲノム不安定性の促進に寄与しているものと考えられる。細胞ゲノム DNA は恒常的に様々な DNA 損傷に曝されているとともに、LINE-1 の動きは DNA 損傷ストレスに応答して活性化することから LINE-1 は DNA 損傷部位自体を挿入の標的として DNA 損傷応答を修飾していることが考えられる。</p> <p>本研究では LINE-1 タンパクの DNA 損傷部位指向性の制御機構を明らかにし、レトロエレメントと DNA 損傷応答の関連について明らかにしてゆきたい。これと同時にゲノム DNA への挿入過程において“RNA から DNA への逆転写“というレトロエレメントと共通の過程を経る外来性レトロウィルスの DNA 損傷部位との相互作用についての解析を行う。これらの結果は DSB を介した LINE-1 の転移機構を明らかにするのみならず、内在性レトロエレメントを介した染色体不安定化機構、発がんプロセス活性化機構の解明にも重要な知見を与えるものである。また内在性のレトロエレメント、および外来性レトロウィルスの挿入機構の共通性・相違点を明らかにすることは新たな抗レトロウィルス薬の開発基盤となる知見をもたらすと期待される。本年度の研究では外来性のレトロウィルスとして HIV-1 の DSB 部位との相互作用について解析を行った。過去の研究により他のウィルス種と同様に HIV の DNA 挿入も DSB 部位において誘導されることが明らかになっており、これはインテグラーゼの酵素活性非依存的な機構であることがわかっている。</p> <p>本研究ではこれまでに、HIV-1 のアクセサリタンパクの1つであり、DNA 結合活性、および DNA 損傷誘導活性を持つ Vpr が、Mre11 依存的に DSB 部位へと迅速に集積することを明らかにしている。また <i>in vitro</i>、および <i>in vivo</i> において Mre11 と Vpr のタンパク間相互作用が確認されたことから、Vpr は細胞内において DSB センサータンパクである Mre11 複合体を介して DSB 部位へとリクルートされることが強く示唆される。本研究により明らかになった Mre11 と Vpr 相互作用の生物学的意義を明らかにするために、リコンビナント Mre11 のエキソヌクレアーゼ活性の測定系に Vpr を加えたところ、顕著な酵素活性の低下を認めたことから、Vpr は Mre11 の DSB 部位における DSB 修復能を制御する可能性が示唆された。次に Vpr の DSB 部位への集積による細胞 DSB 修復経路への影響を明らかにするために、非同末端結合(NHEJ)のレポーターを導入した細胞 (U2OS/pEJ) に mCherry-Vpr を一過性に導入し、Ad-I-SceI により誘導した DSB の修復効率を測定したところ、mCherry 陽性細胞集団において顕著に NHEJ 効率が低下していた。また NHEJ 修復陽性 (GFP) 集団を FACS にて分取し、NHEJ 末端の解析を行ったところ、Vpr 非発現・発現集団間で DSB 修復末端の形状の分布に大きな差が認められ、Vpr 発現群では DSB 末端欠失長の短い集団の顕著な増加が確認された。Mre11 のウィルス感染における役割を明らかにするために、Mre11 欠損、および相補細胞について HIV-1 感染実験を行ったところ、Mre11 の相補によりウィルス感染効率が顕著に抑制されることが明らかとなり、Mre11 は新規の Restriction factor であることが強く示唆された。さらにウィルス DNA の DSB 部位への挿入における Vpr の機能を明らかにするために、Vpr 野生型、および欠損型 HIV ウィルスの</p>		

<p>研究概要</p>	<p>DSB 部位におけるプロウィルス DNA 挿入末端配列の解析を行った。その結果、Vpr 欠損ウィルスでは HIV DNA 末端配列の欠失がより広域に生じる傾向を認めた。以上のことより Vpr は宿主細胞の DSB 修復経路を修飾することで、完全な遺伝情報を持つ HIV DNA の挿入に寄与していることが示唆された。</p> <p>Mre11 の HIV 感染における役割についてより広範に知見を得るために ATLD 細胞、および Mre11 相補 ATLD 細胞において、HIV 感染に伴う DNA 産物を解析したところ、ATLD 細胞において顕著な逆転写反応の昂進が見られたことから、Mre11 は Integration の過程のみならず、逆転写反応に対しても抑制的な作用を持つことが強く示唆された。Mre11 による逆転写反応の抑制機序について明らかにするために、Mre11 の各種変異体を ATLD 細胞に導入し、逆転写反応に対する影響を解析したところ、本機構は Mre11 のヌクレアーゼ活性非依存的な機構であることが示されたことから、DNA 結合ドメイン、および Rad50 結合ドメイン欠損型 Mre11 導入細胞についても解析を進めている。また Mre11 による逆転写反応の抑制機構についても Vpr の寄与が想定されることから、Vpr は完全長 HIV DNA の産生、およびその保護においても機能していることが予想される。</p> <p>本研究により同定されたウィルス・宿主因子相互作用機構の解明は新規の分子機序を標的とした抗 HIV 薬の開発につながることを期待される。このようなレトロウィルス DNA の DSB 部位への挿入機構の詳細な解析は、類似の機構を介したゲノム DNA への挿入が予想される内在性レトロエレメントの DSB 部位への転移機序についても重要な知見をもたらすことが強く期待される。</p> <p>本研究の過程において Vpr がクロマチン構造の修飾に機能していることが想定され、Vpr 発現誘導細胞系において GFP 融合ヒストン H2B の移動度について FRAP 解析を行った。その結果、Vpr 発現下においてヒストン H2B の移動度の顕著な増大が検出された。また Vpr の変異体を用いた解析から、Vpr による H2B 移動度の増大は Vpr を介した H2B ユビキチン化に依存した反応であることが明らかとなり、クロマチンリモデリングの誘導が Vpr の機能性において極めて重要であることが示された（論文投稿中）。</p>
<p>研究発表</p>	<p>〈学会発表〉</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 第 15 回あわじしま感染症・免疫フォーラム、兵庫県淡路市夢舞台、“HIV-1 Vpr induces DNA damage and DNA damage response by changing DNA structure”</li> <li>2. 日本放射線影響学会第 59 回大会、広島県広島市中区加古町、“HIV-1 Vpr による DNA 二重鎖切断誘導機構”</li> <li>3. 茨城大学理学部公開シンポジウム 第 10 回 Quantum Medicine 研究会、茨城県水戸市文京、“ウィルス感染と DNA 損傷の相互作用”</li> </ol>

研究題目	プロテアソームとその関連因子によるゲノム維持機構の解明		
研究代表者	氏名	所属	職名
	武田鋼二郎	甲南大学理工学部生物学科 微生物学研究室 甲南大学統合ニューロバイ オロジー研究所	講師
研究協力者			
所内連絡者	松本智裕	放射線生物研究センター 放射線システム生物学 研究部門	教授
研究概要	<p>26S プロテアソームは、タンパク質分解活性に非依存的に、転写制御、細胞器官の制御、さらに損傷修復に機能することが知られている。本研究では、分裂酵母をモデル生物に用い、プロテアソームとその関連因子によるゲノム維持機構を解明する。分裂酵母において、プロテアソームは核内（クロマチン領域と核膜近傍）に局在しており、その局在には核膜に富む局在化因子 Cut8 が必要である。Cut8 の機能欠損によってプロテアソームの核への蓄積が減少すると、(1) サイクリンや Cut2/セキュリンの分解遅延による M 期進行異常と最終的な染色体の破断、(2) 各種の遺伝子毒性物質 (genotoxin) に対する抵抗性の低下、というゲノム維持に異常を呈する表現型を引き起こすことが報告されている。Cut8 は結晶構造が解明される等、機能面での知見が深まりつつある一方、その制御機構についてはあまり理解されていない。また、Cut8 自体は脊椎動物で明確なホモログが見つからないことから、Cut8 と機能的関連を持って、かつ、進化的に保存された因子を同定することは、プロテアソーム制御機構、また、それらがゲノム維持にどのように寄与するか、に関する知見を得るために有益と考えられる。</p> <p>本年度は、Cut8 と機能的に関連する新奇因子の同定を試みた。これまでの報告や我々の研究から、分裂酵母のセリン/スレオニンキナーゼ Cek1 (高等動物の Greatwall kinase に相当) の増量が、<i>cut8</i> 変異の異常を抑制することがわかっている。Cek1 の増量は基質である Mug134 のリン酸化を亢進すると考えられる。そこで、新奇かつプロテアソームにより近い関連因子を同定するために、Cut8 と Mug134 をどちらも欠損する二重変異株に対して、その高温感受性を抑圧する dosage suppressor の取得を試みた。<i>cut8 mug134</i> 二重変異株に分裂酵母のゲノムライブラリーを導入し、18.1 万の形質転換体をスクリーニングに用いた。その結果、部分的に高温感受性が抑圧された形質転換体 1094 個が取得された。分子遺伝学的な解析は終了していないが、タンパク質キナーゼやホスファターゼを含む断片が複数取得されている。今後、必要な遺伝解析を進めることで、プロテアソーム変異や <i>cut8</i> 変異体の示す M 期異常、また、遺伝子毒性物質に対する抵抗性の低下に対して、得られた関連因子がどのような影響を与えるかが明らかとなり、プロテアソームと関連因子によるゲノム維持機構の新たな知見が得られることが期待される。</p>		
研究発表	<p>〈学会発表〉</p> <p>1. 青野壮馬, 他 4 名. だい 39 回日本分子生物学会. 2016/11/30-12/2. パシフィコ横浜</p>		

研究題目	DNA二本鎖切断修復系の重複制御機構		
研究代表者	氏名	所属	職名
	井原 誠	長崎大学	助教
研究協力者			
所内連絡者	小林純也	放射線生物研究センター	准教授
	<p>DNA二本鎖切断は主に相同組換え修復(HR)と非相同末端結合(NHEJ)の二つの修復系によって再結合される。このうちHRではRad51が鍵タンパクとして働いていることが知られている。毛細血管拡張性運動失調症の患者細胞では放射線照射後のRAD51フォーカス形成が減少して放射線感受性になることから、患者細胞で欠失しているATMが相同組換え修復で機能していると考えられる。その一方で、DR-GFPなどのレポーター遺伝子を用いてHR活性を測定すると、ATMの欠失はHR活性を低下させないことが報告されている。本研究は、この矛盾した結果について解析することを目的とした。</p> <p>哺乳動物の放射線誘発DNA二本鎖切断の再結合ではNHEJが優勢であるので、HRの効果が現れにくい欠点がある。そこで、実験ではKu70蛋白欠失によってNHEJが欠損したSTEF細胞を解析に用いた。初めに、STEF細胞にγ線0.5Gy、4Gyを照射し、その後培養を行ってpATM、Rad51の核内フォーカス数の変動を調べた。その結果、0.5Gyの照射では共に核内フォーカス数がほとんど検出されなかった。一方、4Gyの照射では核内フォーカス数は照射直後から増加し、6～10時間で最大値を示した。以上の結果からHR系が働くには損傷量が有る程度存在する事が必須であると考えられる。従って、細胞内に1個だけ誘発されたDNA二重鎖切断を解析するDR-GFPレポーター遺伝子では、ATMがなくても相同組換えが進行することになると考えられる。</p>		
研究発表	<p>〈論文発表、学会発表〉  DNA二本鎖切断修復過程に働くATMの線量依存性  井原 誠、斎藤 裕一郎、小林純也、栗政明弘、小松賢志、工藤 崇  日本放射線影響学会第59回大会 (広島)</p>		

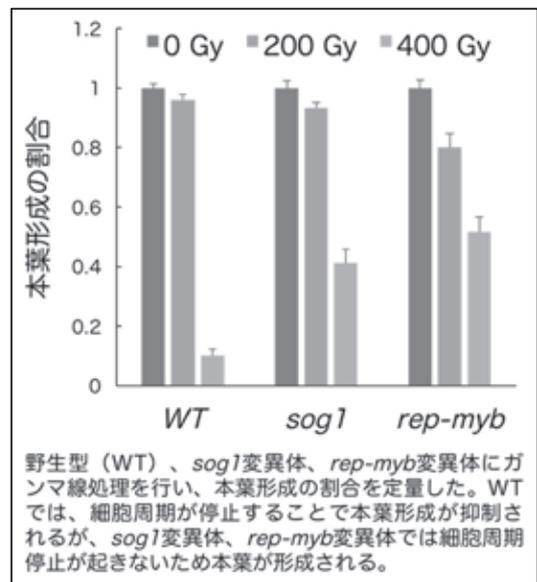
研究題目	ヌクレオチド除去修復因子の生細胞内動態制御機構の解析		
研究代表者	氏名	所属	職名
	菅澤 薫	神戸大学バイオシグナル総合研究センター	教授
研究協力者	酒井 恒	神戸大学バイオシグナル総合研究センター	助教
所内連絡者	井倉 毅	放射線生物研究センター	
研究概要	<p>ヌクレオチド除去修復 (NER) は紫外線誘発 DNA 損傷をはじめとする種々の DNA 損傷をゲノム DNA から取り除き、発がんの抑制に寄与する重要な DNA 修復機構である。哺乳類細胞のゲノム全体を対象とする NER においては、色素性乾皮症関連因子である XPC 及び DDB2 タンパク質を含む複合体が DNA 損傷部位を認識し、修復反応を開始する。これらの因子が関わる DNA 損傷認識の分子機構について理解が進んだ一方、生細胞内におけるクロマチン構造を介した損傷認識の制御機構については不明な点が多く残されている。</p> <p>平成 28 年度の本共同研究では、細胞内において XPC と相互作用して損傷認識を制御する新規因子の探索を行った。具体的には、HA-FLAG 二重タグを融合した XPC を安定発現する HeLa 細胞株を作製し、タグを利用してタンパク質複合体を精製してその構成成分を質量分析により同定した。その結果、XPC がヒストンと相互作用する可能性を新たに見出した。ファーウエスタンブロット解析やプルダウンアッセイにより、1) XPC がヒストン H3 及び H1 と直接相互作用すること、2) XPC が少なくとも二カ所でヒストン H3 と相互作用しう一方、ヒストン H3 の N 末端テールが XPC との相互作用に重要であること、3) ヒストン H3 のアセチル化が XPC への相互作用を負に制御すること、などを明らかにした。</p> <p>研究代表者らは以前より、XPC が結合したクロマチン領域においてヒストン H3K14 や K27 のアセチル化が排除されている可能性をクロマチン免疫沈降によって見出していた。さらに今回、局所紫外線照射と免疫蛍光染色により、DNA 損傷部位におけるアセチル化ヒストンのレベルが周囲に比べて有意に低下することが示され、上記の結果を考え合わせると DNA 損傷部位周辺におけるヒストンの脱アセチル化が XPC のリクルート及びその後の修復反応の開始を促進している可能性が考えられた。実際、細胞をヒストン脱アセチル化酵素阻害剤で処理することにより、1) 局所紫外線照射部位への EGFP-XPC の集積の遅延、2) 主要な紫外線誘発 DNA 損傷である (6-4) 光産物の除去速度の低下が観察された。以上の結果から、遺伝子発現の制御とは異なり、非アセチル化ヒストン H3 やヒストン H1 に富むヘテロクロマチン様構造の形成が XPC の局所的な濃度上昇を介して損傷認識を促進している可能性が示唆された。</p>		
研究発表	〈論文発表〉		
	1. Kakumu E, Nakanishi S, Shiratori HM, Kato A, Kobayashi W, Machida S, Yasuda T, Adachi N, Saito N, Ikura T, Kurumizaka H, Kimura H, Yokoi M, Sakai W, Sugawara K: Xeroderma pigmentosum group C protein interacts with histones: regulation by acetylated states of histone H3. <i>Genes Cells</i> 22: 310-327 (2017).		
研究発表	(学会発表)		
	1. Kakumu E, Nakanishi S, Sakai W, Adachi N, Saito N, Kimura H, Sugawara K: Dynamics of chromatin structure regulating nucleotide excision repair. Conference on Responses to DNA Damage: from Molecule to Disease. April 17-22, 2016, Egmond aan Zee, The Netherlands.		
	2. 各務恵理菜、中西正哉、酒井 恒、足立直子、齋藤尚亮、森 俊雄、木村 宏、胡桃坂仁志、菅澤 薫 : DNA 損傷認識を制御するクロマチン構造動態 第 39 回日本分子生物学会年会 2016 年 11 月 30 日~12 月 2 日 横浜		

研究題目	放射線照射による血清除去誘導細胞死の抑制機構の解析		
研究代表者	氏名	所属	職名
	加藤 真介	横浜薬科大学 放射線科学研究室	教授
研究協力者	梅田 知伸	同上	講師
	小林 芳子	同上	助教
所内連絡者	小林 純也	放射線生物研究センター	准教授
研究概要	<p>【背景】低線量の放射線は、細胞生存維持の情報伝達シグナルを関連因子の受容体刺激を介さずに活性化することがあると考えられている。このことは、ある種の細胞死を放射線照射が抑制できる可能性を提示している。この点の検証を目的として、培地から血清を除去することで誘導される培養細胞の細胞死に対する X 線照射の効果を調査した。</p> <p>【方法】血清含有培地中で PC12 細胞をシャーレに生着後、無血清培地に交換した。その 24 時間後に X 線照射装置を用いて 1 Gy の X 線を照射した。血清除去の 48 時間後に細胞を回収し、western blotting にて各種タンパク質の発現を観察した。</p> <p style="text-align: center;"><b>試料回収スケジュール</b></p>  <p>【結果】血清除去により DNA の損傷を伴う細胞死が観察されたが、1 Gy の X 線照射はこの細胞死を抑制した。このときの細胞生存維持シグナルの活性化状況を p53、cyclin A およびリン酸化 p38 の発現を介して観察したところ、X 線照射が細胞増殖シグナルを抑制していることが明らかになった。また DNA 損傷修復機構関連シグナルの活性化状況を <math>\gamma</math>H2AX、pKAP1 および pRad17 の発現を介して観察したところ、DNA 二重鎖切断修復機構が X 線照射により活性化されていることが明らかになった。</p>		

培地交換後の 経過時間	serum free								
				IR 0			24		48 hr
	0	24	48	0	24	48	24	48	48 hr
	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨
p53									
cyclinA									
p-p38MAPK									
研究発表	<p>〈学会発表〉  上田 優佳、綾 栞、春日 拓也、藤田 優、小林 芳子、梅田 知伸、鈴木 崇彦、  小林 純也、加藤 真介 “X 線照射による血清除去誘導細胞死の抑制メカニズムの解析”  日本薬学会第 136 年会（横浜）2016 年 3 月 28 日</p>								

【考察】DNA の損傷を伴う細胞死が誘導される状況下での適切なタイミングの X 線照射は、DNA 損傷をさらに誘導することで修復メカニズムの活性化を引き起こしたのかもしれない。このとき細胞増殖シグナルの抑制も増強され、生存維持シグナルの持続化が起こり、結果的に X 線照射による細胞死の抑制が観察されたものと考えられる。

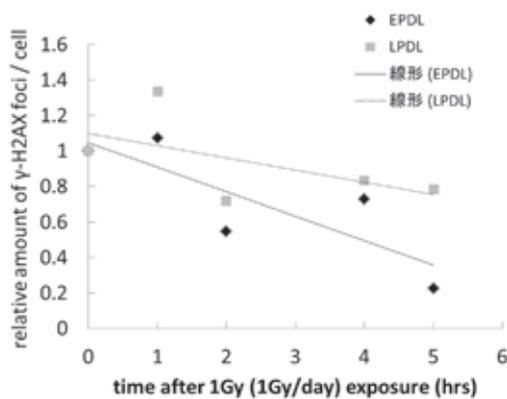
研究題目	植物の DNA 損傷応答の解析		
研究代表者	氏名	所属	職名
	梅田正明	奈良先端大・バイオ	教授
研究協力者	高橋直紀	奈良先端大・バイオ	助教
	萩田伸夫	奈良先端大・バイオ	D3
	沢辺翔吾	奈良先端大・バイオ	D2
所内連絡者	小林純也	放射線生物研究センター	准教授
研究概要	<p>真核生物は DNA 損傷を受けると、センサーキナーゼである Ataxia Telangiectasia Mutated (ATM) と Ataxia Telangiectasia and Rad3-Related Protein (ATR) が損傷 DNA を感知する。動物では、ATM/ATR の下流で CHK1/2 や p53 が活性化することにより、細胞周期の停止やプログラム細胞死が引き起こされることが知られているが、植物は動物の DNA 損傷応答に重要なそれら因子を持っていない。代わりに、ATM や ATR が植物特異的な転写因子である SUPPRESSOR OF GAMMA RESPONSE 1 (SOG1) をリン酸化することで活性化し、下流の遺伝子発現を誘導することで、DNA 修復や細胞周期停止、細胞死などの DNA 損傷応答を引き起こすことが知られている。しかし、植物の DNA 損傷応答に関する知見は非常に限られており、その分子機構については不明な点が多い。</p> <p>最近の我々の研究から、R1R2R3-type MYB 転写因子 (MYB3R) が、DNA 損傷に応答した細胞周期進行の抑制に関わっていることを明らかにした。MYB3R には、活性型 (Act-MYB) と抑制型 (Rep-MYB) が存在し、Act-MYB は G2/M 期遺伝子の発現誘導に、また Rep-MYB は発現抑制に関わる。まず、シロイヌナズナの Act-MYB および Rep-MYB の遺伝子破壊株を単離し、DNA 二本鎖切断を引き起こすゼオシンに対する応答を調べたところ、Rep-MYB の遺伝子破壊株はゼオシンに対して耐性を示すことが明らかになった。また、ガンマ線照射の影響についても同様に調べたところ、Rep-MYB の遺伝子破壊株は、ガンマ線による DNA 損傷に対しても耐性を示した (右図)。同様に、<i>sog1</i> 機能欠損変異体もゼオシンおよびガンマ線照射に耐性を示すことが知られている (右図)。興味深いことに、DNA 損傷を受けていない植物では、Rep-MYB タンパク質がプロテアソーム依存的に分解されるが、DNA 損傷を受けた植物では Rep-MYB タンパク質が安定化することを見出した。Rep-MYB は分裂細胞では CDK によるリン酸化制御を受け、積極的に分解されていることが明らかとなったので、DNA 損傷時は CDK 活性の低下によりタンパク質が高蓄積するものと考えられる。以上の結果から、DNA 損傷ストレスはリン酸化を介して Rep-MYB のタンパク質安定性を制御し、G2/M 期遺伝子の転写が抑制することで細胞周期の G2 期停止を引き起こすことが示された。CDK 活性を低下させるような他のストレスでも同様に Rep-MYB のタンパク質安定化が起きていると考えられるので、この制御メカニズムは環境ストレスに応答して細胞周期を停止させるための基本的な制御系であると考えられる。</p>		



研究題目	DNA 損傷応答におけるセントロメアタンパク質の役割		
研究代表者	氏名	所属	職名
	舩本 寛	かずさ DNA 研究所細胞工学	室長
研究協力者	大関淳一郎	同上	研究員
所内連絡者	石合正道	放射線生物研究センター	准教授
研究概要	<p>ヒト U2OS 細胞に、セントロメアタンパク質 CENP-A, CENP-S, HJURP と蛍光タンパク質 GFP、YFP との融合タンパク質を発現させ、京大放射研の共焦点レーザー顕微鏡により、細胞核内局所への 405nm レーザー照射による、DNA 損傷部位へのセントロメアタンパク質の集積を検討した。HJURP はレーザー照射後 20 秒以内でのレーザー照射部位への集積が観察されたが、同じ実験条件下で CENP-A, CENP-S では、有意な集積が見られなかった。</p> <p>失欠変異体の作製により、Hjurp の集積に必要な領域を検討し、N 末端側と C 末端側の 2 つの領域が必要であることがわかった。</p> <p>N 末端側は、81-395 領域が集積に必要である。この領域をさらに分割したが、81-279 領域のみでは HJURP が核外に存在する、あるいは、261-395 領域では低発現細胞が多く、おそらく HJURP タンパク質の不安定化がおこる等の技術的困難さがあり、最終的な結論を得るに至っていない。</p> <p>C 末端側では、集積に必要な領域と、Hjurp の二量体形成に必要な HCTD2 ドメインとに良い対応関係が見られた。これらの知見をもとにさらに解析をすすめる。</p>		
研究発表	<p>〈論文発表、学会発表〉</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1.</li> <li>2.</li> </ol>		

研究題目	放射線適応応答誘導の線量率依存性と誘導シグナルの解明		
研究代表者	氏名	所属	職名
	立花 章	茨城大 理	教授
研究協力者	高橋 侑子	茨城大・理	学生
所内連絡者	小林 純也	放射線生物研究センター	
研究概要	<p>放射線適応応答は、予め低線量放射線照射を受けた細胞において、その後に受けた高線量放射線による生物影響が軽減される現象である。放射線適応応答の誘導には活性酸素種（ROS）が関与すると考えられているが明確な証拠がない。本研究では、放射線適応応答への ROS の関与を検討した。</p> <p>スーパーオキシドラジカルを消去する SOD2 の発現を、RNAi によって抑制したマウス m5S 細胞に軟 X 線照射装置を用いて 2 cGy X 線を照射して放射線適応応答を検討したところ、適応応答の誘導が抑制された。また、ROS 捕捉剤である N-アセチルシステインで正常 m5S 細胞を予め処理した後、2 cGy X 線による放射線適応応答を検討したところ、やはり適応応答が誘導されなかった。これらのことから、放射線適応応答誘導には適切な濃度の ROS の存在が必要であると考えられる。</p>		
研究発表	<p>〈論文発表〉</p> <p>1. Rapid isolation of murine primary hepatocytes for chromosomal analysis. Ariyoshi K, Fujishima Y, Miura T, Shang Y, Kakinuma S, Shimada Y, Kasai K, Nakata A, Tachibana A, Yoshida MA. In Vitro Cell. Dev. Biol. –Animal, 53 (5), 474-478 (2017).</p> <p>〈学会発表〉</p> <p>1. 柘津安明、安井尚彦、松永愛美、長森夏海、小林純也、立花章：放射線適応応答における p53 リン酸化の解析、日本放射線影響学会第 59 回大会、平成 28 年 10 月 26 日-28 日、広島市</p> <p>2. 神代紗央理、佐川佳穂、中山貴文、尚 奕、鶴岡千鶴、谷 修祐、砂押正章、森岡孝満、B. J. Blyth、島田義也、柿沼志津子、立花 章：子ども期被ばく <i>gpt delta</i> マウス個体の脾臓における <i>gpt</i> 遺伝子突然変異生成に対するカロリー制限の効果、日本放射線影響学会第 59 回大会、平成 28 年 10 月 26 日-28 日、広島市</p> <p>3. 立花 章、神代紗央理、佐川佳穂、中山貴文、杉 菜々美、柿沼志津子、島田義也：子ども被ばくによる誘発突然変異とカロリー制限の影響、日本放射線影響学会第 59 回大会、平成 28 年 10 月 26 日-28 日、広島市</p>		

研究題目	放射線発がん過程における細胞組織応答解析		
研究代表者	氏名	所属	職名
	中村 麻子	茨城大学	准教授
研究協力者	朽木 弥緒	茨城大学	修士2年
	大泉 昂之	茨城大学	修士1年
所内連絡者	小林 純也	放射線生物研究センター	
研究概要	<p>&lt;研究の目的&gt;</p> <p>放射線誘発の発がん過程は、放射線によって直接的に誘発される DNA 損傷応答を起点として、細胞老化反応や炎症反応さらにはエピジェネティクスな変化など様々な細胞応答を引き起こしながら進行していく。そのため、放射線照射後の様々な細胞応答をモニタリングし、発がんとの関連性を明確にしていることは放射線発がんリスクを理解するうえで重要である。そこで、本研究では DNA 損傷応答能に影響を与えることが近年知られている細胞老化・個体老化と放射線発がんリスクの関連性を明確にすることを目的に、本年度は異なる継代数の初代ヒト培養細胞に対する慢性的放射線照射後の DNA 損傷応答について解析を行った。</p> <p>&lt;研究結果&gt;</p> <p>本年度は、放射線照射後の細胞応答に対する細胞老化の影響を明確にするために、異なる継代数のヒト初代培養細胞 TIG-3 に対して低線量率放射線 (1Gy/day) を 1Gy 照射後、経時的に細胞を固定した。その後、DNA 損傷マーカーである <math>\gamma</math>-H2AX、非相同末端結合経路タンパク質である 53BP1、そして相同組み換え修復タンパク質である Rad51 について免疫染色を行い、低線量率放射線に対する細胞老化の影響について検討した。</p> <p>その結果、照射直後の DNA 損傷レベルが老化細胞では継代数の若い細胞に比べて有意に高く検出された。これは、老化細胞では慢性的に誘発される放射線誘発性 DNA 損傷の修復が不十分であり、放射線誘発性 DNA 損傷が蓄積していること示唆している。</p> <p>また、照射後 DNA 損傷修復に伴い <math>\gamma</math>-H2AX フォーカス数は減少していくが、老化細胞ではその減少速度が若い細胞に比べて遅延していた (図 1)。このことは、DNA 損傷応答能は細胞老化によって大きく低下し、特に慢性被ばく条件下では DNA 損傷が蓄積する傾向にあることを示している。老化依存的な放射線細胞応答をさらに解析することで、放射線発がん過程における年齢依存性や発がんリスクへの影響を明確にしていく予定である。</p>		
研究発表	<p>&lt;学会発表&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. <u>Nakamura AJ</u>. "In vivo analysis of multiple cellular responses during radiation-induced tumorigenesis" Genome Damage Network workshop2017 -genome stability-, Feb 6-7, 2017, Maebashi, Gunma.</li> <li>2. <u>Nakamura AJ</u>. Evaluation of radiation-induced DNA damage using gamma-H2AX as a biodosimeter. 第2回レジリエント・コミュニティ国際シンポジウム, Apr. 14-15, 2016, 郡山市中央公民館, 郡山</li> </ol>		



研究題目	放射線照射による RNA 編集の多様性に関する研究		
研究代表者	氏名	所属	職名
	倉岡 功	大阪大学大学院 基礎工学研究科	准教授
研究協力者			
所内連絡者	井倉 毅	放射線生物研究センター	准教授
研究概要	<p>転写伸長中の RNA ポリメラーゼは、DNA 鎖切断によって一時停止状態になる。DNA 鎖切断を導く状況はさまざまに存在するが、トポイソメラーゼなどによっての切断や、修復過程における切断も少なからず存在している。我々は DNA 鎖切断を解析する中で、DNA 鎖を切断する EEPD1 を解析することにした。この酵素は、複製中の DNA 鎖の切断に関与することが示唆されており、この酵素の転写による挙動の解析が必要になったためである。この EEPD1 は 569 のアミノ酸からなるタンパク質であり、helix-hairpin-helix DNA-binding domain および Endonuclease/exonuclease/phosphatase family domain を有する。この family domain は DNase I や AP endonuclease などの他のヒトタンパク質においても確認されている。EEPD1 のこのドメインにおけるアミノ酸配列は幅広い生物間において高度に保存されている。</p> <p>我々は、この EEPD1 を単離し、その酵素を解析した。5' 末端をラベルした 30 mer ssDNA 基質を作製し、その基質に対して EEPD1 タンパク質濃度をさまざまに変え、切断反応を行った。その結果、EEPD1 は ssDNA を濃度依存的に切断することが明らかとなった。</p> <p>dsDNA を用いて同様の実験を行った。EEPD1 は dsDNA に対しても endonuclease 活性を有することが確認された。しかし、この dsDNA に対する EEPD1 の切断活性は ssDNA に対する切断活性に比べると低いものであった。したがって、EEPD1 が切断基質として dsDNA よりも ssDNA を好むことが予想された。</p>		
研究発表	<p>〈論文発表、学会発表〉</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Tawarahara H, Kuraoka I, Iwai S. Facile preparation of a fluorescent probe to detect the cellular ability of nucleotide excision repair. Anal Biochem. 2017 Jun1;526:71-74. PubMed PMID:28366639.</li> <li>2. Kim JI, Tohashi K, Iwai S, Kuraoka I. Inosine-specific ribonuclease activity of natural variants of human endonuclease V. FEBS Lett. 2016 Dec;590(23):4354-4360. PubMed PMID: 27800608.</li> <li>3. Yamamoto J, Takahata C, Kuraoka I, Hirota K, Iwai S. Chemical Incorporation of Chain-Terminating Nucleoside Analogs as 3'-Blocking DNA Damage and Their Removal by Human ERCC1-XPF Endonuclease. Molecules. 2016 Jun 11;21(6). pii: E766. PubMed PMID: 27294910.</li> <li>4. 倉岡功、高畑千晶、岩井成憲 放射線影響学会第 59 回大会</li> </ol>		

研究題目	ファンconi貧血経路による RAD51 フィラメント安定化活性の DNA 修復における役割		
研究代表者	氏名	所属	職名
	胡桃坂仁志	早稲田大学 理工学術院	教授
研究協力者	佐藤浩一	早稲田大学 理工学術院	助教
所内連絡者	高田 穰	放射線生物研究センター	教授
研究概要	<p>ファンconi貧血(FA)経路は、放射線照射や抗がん剤などによる DNA 損傷応答に必須の役割を果たす。FA 経路では、FA 原因遺伝子産物群 (FANCA-FANCT) が RAD51 リコンビナーゼと協調し、DNA 修復において機能することが知られている。我々は、京大放生研・高田研究室との共同研究により、FA 経路の中心分子である FANCI-FANCD2 (ID) 複合体が RAD51 リコンビナーゼと直接相互作用し、DNA 上に形成された RAD51 フィラメントを安定化する活性をもつことを見いだした。本研究では、遺伝子欠損細胞そして変異体発現細胞を用いて、ID 複合体による RAD51 フィラメント安定化の詳細な解析と DNA 損傷における役割を検討した。</p> <p>具体的には、RAD51 の局所集積におよぼす FANCD2 欠損の影響を、フォーカス形成や、FRAP 解析により明らかにした。これらの細胞学的観察は、共同利用によるサポートをうけて高田研究室にステイして実施した。また、精製蛋白質による生化学的解析によって、FANCD2 が RAD51 フィラメントの安定化に機能することを確定させ、さらにこれらの活性が FAN1 (FA-associated nuclease 1) による DNA 分解阻止に機能することを明らかにした。これらの成果は、Nucleic Acids Res に発表した(論文 1)。</p>		
研究発表	<p>〈論文発表、学会発表〉</p> <p>1. FANCI-FANCD2 stabilizes the RAD51-DNA complex by binding RAD51 and protects the 5'-DNA end. Sato K, Shimomuki M, Katsuki Y, Takahashi D, Kobayashi W, Ishiai M, Miyoshi H, Takata M, Kurumizaka H. Nucleic Acids Res. 2016 Dec 15;44(22):10758-10771.</p>		

研究題目	RNF8により制御される非典型的DNA修復機構の解析		
研究代表者	氏名	所属	職名
	中田慎一郎	大阪大学 大学院医学系研究科	独立准教授
研究協力者	加藤希世子	大阪大学 大学院医学系研究科	特任研究員
	中嶋一裕	大阪大学 大学院医学系研究科	大学院生
所内連絡者	高田 穰	放射線生物研究センター	教授
研究概要	<p>PARP阻害剤はBRCA1/BRCA2変異がん細胞に著効し、臨床での成果が期待されている。分子生物学的な標的は、相同組換え(HR)の欠損である。しかし、PARP阻害剤にも抵抗性が懸念されており、その一つの原因はHRの回復である。BRCA1欠損細胞での53BP1の発現低下は代表的な例である。</p> <p>我々は、E3ユビキチンリガーゼRNF8がBRCA1・53BP1非存在下(PARP阻害剤抵抗性細胞のモデル)においてDNA修復を制御することを示してきた。最近の研究において、BRCA1・53BP1ダブルノックアウト細胞においてRNF8がシスプラチン耐性に重要であることを見いだした。したがって、RNF8はBRCA1依存的なHRとは異なるあらたなDNA2本鎖損傷修復において機能していることが示唆された。実際、過去の報告でもWeidog Wangらのグループは、RNF8によるユビキチン化がFAAP20を介してファンconi貧血経路に関与することを報告し(Mol Cell 2012)、また、Haico Van Attikumらは、RNF8下流のRNF168がPALB2の局在制御によって相同組換えに関与することを報告している(eLife 2017)。また、高田研究室との共同研究で、RNF8-RNF168経路の上記とは異なる機能も見いだしつつあり、今後さらに解析が必要を進めていく。</p>		
研究発表	<p>〈論文発表、学会発表〉</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Isono M, Niimi A, Oike T, Hagiwara Y, Sato H, Sekine R, Yoshida Y, Isobe S, Obuse C, Nishi R, Petricci E, <u>Nakada S</u>, Nakano T, Shibata A BRCA1 Directs the Repair Pathway to Homologous Recombination by Promoting 53BP1 Dephosphorylation. Cell Rep. 10, 520-532, 2017</li> <li>2. Opposing roles of RNF8/RNF168 and deubiquitinating enzymes in ubiquitination-dependent DNA double-strand break response signaling and DNA-repair pathway choice. Nakada S. J Radiat Res. 2016 Aug;57 Suppl 1:i33-i40. doi: 10.1093/jrr/rrw027.</li> <li>3. DNA 損傷応答・修復におけるRNF8経路の役割 中田慎一郎 第75回日本癌学会学術総会(招待講演) 2016年10月6日-8日 横浜 国内</li> <li>4. RNF8 regulates sensitivity of BRCA1-53BP1 knockout cells to DNA cross-linking agents Kiyoko Kato and Shinichiro Nakada, Fanconi Anemia Symposium, Seattle, USA 2016年9月 国外</li> </ol>		

研究題目	がん遺伝子過剰発現と放射線照射による複製異常と全ゲノム CNV s/Indel との比較解析		
研究代表者	氏名	所属	職名
	香崎 正宙	産業医科大学 産生科研	助教
研究協力者			
所内連絡者	高田 穰	放射線生物研究センター	教授
研究概要	<p>本研究では、がんを引き起すことで知られる放射線照射、がん遺伝子過剰発現や抗がん剤のシスプラチン処理などのストレスを与えた後に、がん細胞がどのような応答を示すのかについて分子レベルで詳細に解析し、二次発がんや薬剤耐性を獲得するメカニズムを探ることを目的とする。</p> <p>我々はすでに、放射線やシスプラチンにRECQL4欠損がん細胞が高感受性である表現型を明らかにしているが、興味深いことに、非がん細胞ではこれらの処理に対する高感受性が観察されないことを確認した。今回、このがん細胞特異的な表現型が生じるメカニズムについて解析を進め、あるDNA修復経路が活性化することを明らかにした。現在、全ゲノムCGHを含めた様々な角度から解析を進めることによって、がん細胞特異的なDNA修復経路活性化メカニズムを詳細に理解することで、これらのがん細胞の増殖をいかに抑制するかについての検討実験を行っている。</p>		
研究発表	<p>〈学会発表〉</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 香崎正宙(口頭発表)、大津山彰、阿部利明、孫略、宮田博規、馬田敏幸、盛武敬、岡崎龍史、放射線誘導 C57BL/6 マウス胸腺リンパ腫の発生閾値周辺領域解析に基づく胸腺リンパ腫関連バイオマーカーの探索、第57回放射線影響懇話会、福岡、2017年6月</li> <li>2. 香崎正宙(口頭発表)、今、何が放射線生物学に求められているのか？われわれ若手研究者は何ができるのか？放射線生物学ワークショップ、大阪、2017年3月</li> <li>3. Kohzaki M (Oral presentation). Role of DNA repair pathways in cancer progression. GDN genome stability. Gunma, Feb. 2017.</li> </ol>		

研究題目	ヒト多能性幹細胞におけるゲノム安定性維持機構の解析		
研究代表者	氏名	所属	職名
	黒沢 綾	群馬大学 理工学府	助教
研究協力者			
所内連絡者	小林 純也	放射線生物研究センター	准教授
研究概要	<p>ヒト多能性幹細胞(human pluripotent stem cell: hPSC)は、臨床治療への利用の開始により、基礎研究のみならず重要度を増している。hPSCにおけるゲノム安定性維持機構の解明は、in vitro 培養による品質保持の面においても重要であるが、十分になされているとは言いがたい。そこで、本研究では電離放射線照射後のヒト幹細胞の生存率や分化能を調べ、ゲノム安定性維持機構や分化との関連性を明らかにする。</p> <p>平成28年度は、平成27年度に引き続き、ヒトES細胞より作製された神経幹細胞(human neural stem cell: hNSC)のゲノム安定性維持機構の解析を行った。まず、hNSCにおいてゲノム安定性維持に関わる遺伝子の発現をRT-PCRにより確認した。次に、hNSCをマルチウェルプレートに播種し、分化誘導用培地を用いて神経細胞へと分化誘導した。抗<math>\beta</math>-III tubulin抗体を用いた免疫染色により、分化誘導を確認した。この条件を用いて、ATM阻害剤KU55933を含む分化誘導培地で分化誘導を試みた結果、分化誘導3日後にはほぼ全ての細胞が死滅することがわかった。一方、DNA-PK阻害剤NU7026を含む培地で分化誘導しても、分化誘導初期(3日以内)の細胞死は観察されなかった。ノックアウトマウスを用いた解析から、神経細胞の分化においてNHEJが必要とされるのは、分化の後半部分であることから、DNA-PK阻害による神経発生への影響は、分化誘導開始から3日目以降に生じると予想される。これらの基礎的解析を進め、DNA損傷誘発によるhNSCの分化への影響について調べていく予定である。</p>		

研究題目	核内構造体による DNA 二重鎖切断修復の制御機構解明		
研究代表者	氏名	所属	職名
	西 良太郎	立命館大学生命科学部生命医科学科	助教
研究協力者	松井 美咲	立命館大学大学院生命科学研究所	修士 2 年
所内連絡者	石合 正道	放射線生物研究センター	准教授
研究概要	<p>DNA 修復の分子機構については、これに関与するタンパク質の同定に始まり、エピジェネティック制御を含むクロマチンレベルにおける制御機構が解明されてきた。その一方、核内ドメインあるいは、構造体が DNA 修復に及ぼす影響は必ずしも明らかではない。本研究計画では、新規 nuclear speckle 因子として見出した脱ユビキチン化酵素の機能解析を通じて、nuclear speckle を介した DNA 修復制御機構を明らかにすることを目的とする。特に、本年はこの脱ユビキチン化酵素の解析に加えて、他の nuclear speckle 因子のノックダウン、ノックアウトによる DNA 修復への影響を細胞生物学的な観点から解析する。</p> <p>現在までに、この脱ユビキチン化酵素の様々な欠失変異体の細胞内局在を共焦点顕微鏡により解析したところ、当該因子の核局在及び、核内において nuclear speckle への局在に必要なドメインを同定した。その一方で、この因子は DNA 二本鎖切断 (DNA double strand break; DSB) 修復経路のうち、相同組換え修復に促進的に機能し、MRN(MRE11-RAD50-NBS1)複合体と相互作用することが我々のデータから示唆されていた。そこで、この因子のノックダウンが MRN 複合体の ionizing radiation induced foci (IRIF)の形成に与える影響を検討している。また、DSB は主に相同組換え修復あるいは、これと相互排他的に機能する非相同末端再結合により修復され、いずれの修復経路によって DSB が修復されるかは、細胞周期及び、53BP1、BRCA1 等の因子により制御されることが知られている。そこで、本研究で着目した因子が、この DSB 修復経路の選択に寄与するかどうかを 53BP1 及び、BRCA1 の IRIF の形成を細胞周期特異的に検討することで明らかにしようと試みている。さらに、現在 nuclear speckle 因子として報告のあるタンパク質のうち mRNA splicing への関与が知られている因子を除いた 129 のタンパク質を標的とし、相同組換え修復に与える影響をノックダウンにより検討したところ、複数の候補因子を得た。今後はこれらの因子のノックダウンが現在解析している脱ユビキチン化酵素と同様の表現型を与えるか明らかにする予定である。</p>		

研究題目	非相同末端結合による DNA 二重鎖切断修復機構の解明		
研究代表者	氏名	所属	職名
	松本 義久	東工大 科学技術創成研究院 先導原子力研究所	准教授
研究協力者	島田 幹男	東工大 科学技術創成研究院 先導原子力研究所	助教
	土屋 尚代	東工大 大学院理工学研究科 原子核工学専攻	大学院生(修士)
	松宮 雅典	東工大 大学院総合理工学研 究科 創造エネルギー専攻	大学院生(修士)
	山口 基貴	東工大 大学院理工学研究科 原子核工学専攻	大学院生(修士)
所内連絡者	小林 純也	放射線生物研究センター	准教授
研究概要	<p>ほ乳類細胞含め、真核細胞において、DNA 二重鎖切断は主として「相同組換え」、「非相同末端結合(NHEJ)」の2つの機構で修復される。本研究では、NHEJ の分子機構を明らかにすることを目的として行った。NHEJ においては、DNA 切断センサーである DNA-PK (DNA-PKcs、Ku70、Ku86 からなる)、DNA 末端同士を結合する酵素である XRCC4-DNA ligase IV 複合体が中心的な役割を担う。平成 27 年度の研究で、Ku70 欠損細胞(Ku70 欠損マウス由来胎児線維芽細胞)が低線量率放射線(1 mGy/min)に著しい感受性を示すという結果が得られたことを受け、本年度は NHEJ 遺伝子欠損細胞の低線量率放射線感受性の検討を中心に行った。</p> <p>まず、Ku70 欠損細胞についてさらに実験を重ね、統計的有意性や再現性を確認した。次に、DNA-PKcs を欠損する scid マウス由来胎児線維芽細胞を用いて同様の検討を行った。DNA-PKcs 欠損細胞合は、Ku70 欠損細胞ほど著しい低線量率放射線感受性を示さなかった。さらに、Ku86 を欠損するチャイニーズハムスター肺線維芽細胞由来 XR-V15B 細胞を用いた検討を行ったが、統計的有意性や再現性を確認するために、平成 29 年度に引き続き実験を行う予定である。</p>		
研究発表	<p>〈学会発表〉</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>○土屋 尚代, 島田 幹男, 小林 純也, 松本 義久. 低線量率放射線応答における DNA 二重鎖切断修復タンパク質の役割. 日本放射線影響学会第 59 回大会, JMS アステールプラザ(広島), 2016 年 10 月 26~28 日, P034 (ポスター).</li> <li>○土屋 尚代, 島田 幹男, 小林 純也, 松本 義久. DNA 二重鎖切断修復欠損細胞の低線量率放射線に対する感受性. 第 23 回癌治療増感研究会, 軽井沢プリンスホテルウエスト(長野・軽井沢), 2017 年 7 月 15 日.</li> </ol>		

研究題目	ゲノム修復における RAD51 蛋白質複合体の機能解析		
研究代表者	氏名	所属	職名
	田代 聡	広島大学・原医研	教授
研究協力者	孫 継英	広島大学・原医研	講師
	堀越 保則	広島大学・原医研	助教
	福戸 敦彦	広島大学・原医研	大学院生
所内連絡者	井倉 毅	放射線生物研究センター	准教授
研究概要	<p>我々は、DNA 二本鎖切断の相同組換え修復において重要なタンパク質 RAD51 は、様々な蛋白質と蛋白質複合体を形成するとともに、ゲノム損傷部位に集積し核内高次構造体を形成することを明らかにしてきた。しかし、RAD51 の蛋白質複合体としての機能は不明である。そこで、本研究では、放射線生物研究センターの井倉毅准教授との共同研究で、RAD51 と特異的に相互作用するタンパク質の同定から RAD51 の核内高次構造体形成機構の解明に取り組む。</p> <p>研究の具体的方法は以下のとおりである。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) FLAG 標識 RAD51 安定発現細胞株に <math>\gamma</math> 線照射装置を用いて放射線照射 (12Gy) を行う。</li> <li>2) 放射線照射および非照射対象の培養細胞から RAD51 複合体を精製する。</li> <li>3) MAS 解析およびウェスタンブロット解析を用いて、複合体の構成因子を同定する。</li> <li>4) 複合体の構成因子について、RAD51 の核内高次構造体形成での役割を解析する。</li> </ol> <p>これらの研究の結果、RAD51 複合体の構成成分について、RAD51 フォーカス形成に関与する複数の因子を見出した。現在、論文投稿準備中である。</p>		
研究発表	〈論文発表〉		
	1. RAD51 による相同組換え修復の制御機構, 長崎医学会雑誌, 91 巻, pp.187-pp.189 堀越保則		
	〈学会発表〉		
	1. 「細胞のロバストネスを規定するタンパク質複合体のダイナミクス」第 89 回日本生化学会大会シンポジウム発表 田代聡 (2016 年 9 月 26 日)		
	2. 「RAD51 による相同組換え修復の制御機構」第 57 回原子爆弾後障害研究会 口頭発表 堀越保則 (2016 年 6 月 5 日)		
	3. 「RAD51 による相同組換え修復の制御機構」第 39 回日本分子生物学会年会 ポスター発表 堀越保則 (2016 年 11 月 30 日)		
	5. 「RAD51 による相同組換え修復の制御機構」第 34 回染色体ワークショップ・第 15 回核ダイナミクス研究会 口頭発表 堀越保則 (2017 年 1 月 12 日)		
	6. “Topographical regulation of homologous recombinational repair by RAD51” 5th International Symposium of the Mathematics on Chromatin Live Dynamics 口頭発表 堀越保則 (2017 年 3 月 7 日)		

研究題目	マウス抗原提示細胞による免疫エフェクター細胞の活性化調節機構の解析		
研究代表者 Researcher	氏名	所属	職名
	高原 和彦	京大 生命科学	准教授
研究協力者			
所内連絡者	松本 智裕	放射線生物研究センター	教授
研究概要	<p>強力な抗原提示細胞である樹状細胞 (DC) は外来抗原を T 細胞に提示するだけでなく、様々なサイトカイン産生し免疫応答の方向性を決定する。DC は抗原取り込みレセプターとして多種のレクチンを発現しているが、これらは抗原を取り込むだけでなく、細胞内に様々なシグナルを伝え免疫応答の方向性に影響を与える。また、感染時以外の局面でも、生体の恒常性の維持に働いている事が明らかになりつつある。28年度は DC およびマクロファージ (Mφ) に発現し、細胞内に抑制性のシグナルを伝えると考えられる ITIM 配列を有するレクチン DCIR1 の肝炎における働きを検討した。</p> <p>野生型 (WT) および DCIR1 欠損マウス (DCIR1KO) にリポポリサッカリドおよび Galactosamine を静脈投与し肝炎を誘導した。予想に反して、DCIR1KO においてマウス死亡率が改善し、組織学的にも症状が軽微であった。また、肝障害を示す血中マーカー値および炎症性サイトカインの上昇も抑えられた。DCIR1KO では肝臓への各種免疫系細胞の流入が有意に低く、特に初期に流入する好中球が顕著であった。そこで、好中球に働くケモカイン KC および MIP-2 の発現を検討したところ、DCIR1KO では肝炎誘導後の KC の発現が低下していた。培養細胞に発現させた DCIR1 を抗体で架橋したところ、KC の発現に働くと予想されるホスファターゼ SHP-1 と DCIR1 分子の結合が確認された。</p> <p>以上の実験から、レクチン DCIR1 が感染応答だけでなく疾患の増悪にも働いている可能性が示された。</p>		
研究発表	<p>〈論文発表〉</p> <p>1. Ishiguro, T.*, Fukawa, T.*, Akaki, K., Nagaoka, K., Takeda, T., Iwakura, Y., Inaba, K., and Takahara, K. (2017) Absence of DCIR1 reduces the mortality rate of endotoxemic hepatitis in mice. <i>Eur. J. Immunol.</i> <b>47</b>, 704-712. (*equal contribution)</p> <p>〈学会発表〉</p> <p>1. Takahara, K., Iwakura, Y. and Inaba, K. Amelioration of DSS-induced colitis in DCIR1-deficient mice. (2016) 日本免疫学会、沖縄</p>		

研究題目	microRNA を標的とした新規ドラッグ・デリバリー・システムの開発		
研究代表者	氏名	所属	職名
	山吉 麻子	京都大学 白眉センター	特定准教授
研究協力者			
所内連絡者	原田 浩	放射線生物研究センター	教授
研究概要	<p>近年、がん細胞から放出されたエクソソームに含まれる microRNA (exosomal miRNA)によるがん細胞の増殖制御機構、転移制御機構が見出され、疾患治療の標的分子として注目を集めている。本研究では exosomal miRNA の機能阻害を目指し、エクソソーム表面抗原を認識する抗体 (anti-Exo 抗体) を薬物輸送担体として利用することで、anti-miRNA 核酸をエクソソームに付随させて受容細胞に送達する新たな DDS 戦略の構築を試みた。</p> <p>Hypoxia 環境下 (0.1% O<sub>2</sub>) において培養した口腔上皮がん細胞からエクソソームを回収し、その中に含まれる miR-21 を qRT-PCR によって定量したところ、通常酸素濃度環境下 (20% O<sub>2</sub>) において培養した同細胞由来エクソソームに含まれる miR-21 の量と比較し約 4 倍増大することを確認した。また、Hypoxia 環境下から回収したエクソソームを口腔上皮がん細胞の培養上清に添加した結果、細胞の遊走能・転移能が向上することが確認された。この実験系に申請者の開発したエクソソーム随伴導入型 miRNA 機能制御分子 (ExomiR-Tracker) を導入し、その効果を評価したところ、細胞の遊走能・転移能ともに顕著に抑制することに成功した。本研究成果は、エクソソーム内包型 microRNA を標的とした遺伝子制御分子として全く前例が無いため、学術的にも非常に新規性が高いものとして今後の疾患治療への応用が期待されるものである。</p>		
研究発表	<p>〈論文発表、学会発表〉 (*: Corresponding author)</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. <u>Yamayoshi, A.*</u>, Miyoshi, D., Zouzumi, Y., Matsuyama, Y., Ariyoshi, J., Shimada, N., Murakami, A., Wada, T., Maruyama, A.* , Selective and Robust Stabilization of Triplex DNA Structures using Cationic Comb-type Copolymers, <i>J. Phys. Chem.</i>, 121, 4015-4022 (2017).</li> <li>2. Ariyoshi J., Eimori N., Kobori A., Murakami A., Sugiyama H., <u>Yamayoshi A.*</u>, Characterization of the releasing profile of microRNA from RISC using anti-miRNA oligonucleotides, <i>Chem. Lett.</i>, 46, 143-5 (2017).</li> <li>3. Sugihara Y, Nakata Y, <u>Yamayoshi A</u>, Murakami A, Kobori A., Inhibition effect of photoresponsive -haloaldehyde-conjugated oligonucleotides on the gene expression in HeLa cells stably expressing GFP. <i>Chem. Lett.</i>, in press.</li> <li>4. <u>Yamayoshi A.*</u>, (招待講演) The 2nd International Symposium of Chemistry and Biology of RNA Interference, "Development of novel inhibitors for the functional regulation of microRNA"</li> </ol>		

研究題目	細胞老化の視点からみた長期培養ラット心筋細胞の機能解析		
研究代表者	氏名	所属	職名
	石川 冬木	京大 生命科学研究科	教授
研究協力者	野間 直十	京大 生命科学研究科	D4
所内連絡者	原田 浩	放射線生物研究センター	教授
研究概要	<p>日本人の死因の第2位は心疾患であり、この死亡率は加齢に伴い上昇する。これまで心疾患の原因は、非増殖系である心筋細胞の、加齢や心筋梗塞に伴う細胞死による心機能低下であると考えられてきた。しかし近年、心筋細胞が細胞死以外に、細胞老化と呼ばれる形質変化を起こすことも心疾患の一因であることが示唆されている。心筋細胞における細胞老化研究について、加齢マウス・ラットの心臓切片では複数の老化関連表現型が観察されている。これらの老化表現型は、加齢だけでなくミトファジー不全やドキシソルビン投与においても観察されており、不良ミトコンドリアの蓄積あるいは酸化ストレスによって心筋細胞が細胞老化に至ると考えられている。</p> <p>一方で、我々の生体外での心筋培養系において、ドキシソルビン処理による細胞老化誘導は観察されていない。これまでに我々が明らかにしたことは、ラット新生児由来の心室筋は、長期培養によって老化表現型を呈することや(表1)、拍動関連蛋白質である<math>\alpha</math>ミオシン重鎖やSERCA2(カルシウムイオンポンプ)の転写量が低下し、拍動頻度も低下するということである。この長期培養系において、心筋細胞が老化表現型を獲得するまでのあいだ、すなわち移行期にミトファジーが抑制されているような結果は得られておらず、ミトコンドリア量は経時的に減少している。したがって、酸化ストレス経路でもミトファジー不全経路でもない、その他の老化誘導機構が考えられた。</p> <p>これまでに我々は、上述の移行期および老化期においてオートファゴソームマーカーであるLC3-II蛋白質量およびオートファジーアダプターp62蛋白質量が増大することを確かめている。また、ポリユビキチン化蛋白質量の増加も長期培養心筋細胞で認められた。これらの一部の表現型は、低酸素培養やラパマイシン処理によるオートファジーの活性化によって回避することが確かめられている。以上のことは、移行期と老化期においてミトコンドリア以外の選択的オートファジーが減弱していることや、分解されるべき不要な蛋白質が細胞内に蓄積していることを示唆している。現在、これらの減弱しているオートファジーの標的や蓄積している不要な蛋白質の同定を試みており、この現象が細胞老化の誘導や形質に及ぼす影響を評価しようとしている。</p>		

研究題目	もやもや病感受性遺伝子 RNF213 のシグナリング経路の解明		
研究代表者	氏名	所属	職名
	Shohab Youssefian	京都大学医学研究科	教授
研究協力者	武田 美都里	京都大学医学研究科	学生
所内連絡者	原田 浩	放射線生物研究センター	教授
研究概要	<p>疫学的研究によってもやもや病感受性遺伝子 RNF213 が同定され、東アジアの患者における共通の変異として R4810K が特定された。日本、中国、韓国において 1500 万人以上保因者が存在するにも関わらずもやもや病を発症するのは 1/300 以下とされている。そのため、もやもや病は遺伝要因のみでなく環境要因の関与が示唆されている。本研究では、低酸素下におけるもやもや病感受性遺伝子 RNF213 の HIF-1 経路への関与を調べることで、環境要因と発症の関連を探ることを目的とした。</p> <p>RNF213 をノックダウンした細胞や、変異 RNF213 (R4810K) を導入した細胞を、低酸素条件(1% O<sub>2</sub>)で 24 時間培養し、HIF-1 経路のエフェクター分子の発現や活性に変化を与えるかを調べた。HIF-1 経路のモニタリングには原田浩教授の樹立されたルシフェラーゼレポーターアッセイ系を用いて実験を行った。</p> <p>実験の結果、24 時間の低酸素曝露によって、RNF213 ノックダウン細胞や RNF213 変異導入細胞での HIF-1 経路の活性に差があるように見られたが、サンプル間での Variation が大きく今のところ結論は出せていない。今後、更なる条件検討や n 数の増加が必要である。</p>		

研究題目	酵母染色体構築における分子機構の解明		
研究代表者	氏名	所属	職名
	高山 優子	帝京大学・理工学部	講師
研究協力者	中瀬 由起子	放射線生物研究センター	特任助教
所内連絡者	松本 智裕	放射線生物研究センター	教授
研究概要	<p>遺伝情報を担う遺伝情報を次世代に受け継ぐことは、生命維持にとって重要です。染色体のセントロメアは染色体の安定維持に必須な領域であり、CENP-A を含むヌクレオソームがセントロメアを決定しています。そこで、酵母細胞を用いて CENP-A ヌクレオソームが形成される分子機構を解明することで、染色体を継承する機構を理解することを目的としました。さらに、油脂生産酵母について同様の解析を行うことで、工業的に有用な酵母を用いた分子遺伝学を目指します。</p> <p>分裂酵母のスクリーニングにより単離した因子の機能解析を進めました。この遺伝子欠失株を作製し、セントロメアにおける遺伝子サイレンシング解析を行ったところ、サイレンシング異常が観察されました。今後は、遺伝子サイレンシングの状況をさらに詳しく Northern blot により解析していく予定です。</p> <p>また、油脂生産酵母の遺伝解析を行うために、孢子分離実験を行いました。孢子形成培地に移し、孢子を形成するまでの時間が非常に長くかかることがわかりました。また、油脂生産酵母に形質転換可能なプラスミドを作成しました。現時点では、まだ形質転換効率が悪いため、さらに改変していきます。</p> <p>今後は、油脂生産酵母に変異源を導入し、遺伝子変異株取得を行います。</p>		
研究発表	<p>〈学会発表〉</p> <p>1. 第 39 回日本分子生物学会 2016 年 11 月 30 日～12 月 2 日 油脂生産酵母の分子生物学的手法開発の試み 高山優子</p>		

研究題目	放射線・ゲノムストレスに対するヒト血管内皮細胞のテロメア安定性		
研究代表者	氏名	所属	職名
	阿武久美子	広島文教女子大学・ 人間科学部	准教授
研究協力者			
所内連絡者	小林純也	放射線生物研究センター	准教授
研究概要	<p>ヒトの正常体細胞は、培養系に移し細胞分裂を繰り返させると、細胞老化と呼ばれる不可逆な分裂停止に至ることが知られている。染色体末端のテロメア DNA は細胞分裂時の半保存的複製により細胞分裂を繰り返すと短縮していく。テロメア構造は細胞老化の制御要因であると考えられている。一方で放射線、紫外線、ROS などのゲノムストレス因子は早期の細胞老化を誘導することが知られている。しかし、これらのテロメアへの影響はほとんど明らかになっていない。そこで、本研究では、ヒト血管内皮細胞を用いて、ゲノムストレスとテロメア安定性との関係を検討し、早期細胞老化誘導のメカニズムの一端を明らかにすることを目的としている。</p> <p>培養ヒト血管内皮細胞に放射線、紫外線、過酸化水素処理を行った後、一定の継代培養回数ごとに細胞を回収し、ゲノム DNA 抽出後、テロメアの長さをサザンブロット法等で測定し、未処理の若い細胞や老化細胞と比較することを計画し、一部について実施した。今後はさらに継続して計画を実施し、加えてテロメア DNA に結合するタンパク質 TRF1、TRF2 などを免疫染色法で検出し、その量的・質的变化によりゲノムストレスのテロメア構造への影響を検討する予定である。</p> <p>本研究により、早期細胞老化誘導にゲノムストレスによるテロメアへの障害が関与するかどうかを明らかにでき、ゲノムストレスによる早期老化誘導機構の一端が明らかになることが期待される。</p>		
研究発表	<p>〈論文発表、学会発表〉 なし</p>		

研究題目	DNA 損傷トレランスにおけるユビキチンシステムの役割		
研究代表者	氏名	所属	職名
	益谷央豪	名古屋大学 環境医学研究所	教授
研究協力者	金尾梨絵	名古屋大学 環境医学研究所	助教
所内連絡者	高田 穰	放射線生物研究センター	教授
研究概要	<p>UV などの DNA 損傷時、損傷の存在にかかわらず DNA 複製を進行させるため、RAD18 による PCNA に依存した経路が発動する。具体的には、PCNA モノユビキチン化により損傷乗り越え DNA 複製経路が、ポリユビキチン化によりテンプレートスイッチ経路が発動すると考えられているが、我々は最近、マルチモノユビキチン化修飾により制御される未同定の経路が存在することを見いだした。</p> <p>本研究では高田研究室との共同研究により、コンストラクト等入手し、この新規の DNA 損傷トレランス機構の理解を試みている。現在までに、siRNA スクリーニングによって、この経路のあらたな制御因子候補の同定に成功し、その詳細な解析を行っている。</p>		
研究発表	<p>〈論文発表、学会発表〉</p> <p>1. Regulation of DNA damage tolerance in mammalian cells by post-translational modifications of PCNA. Kanao R, Masutani C. Mutat Res. 2017 Jun 21. pii: S0027-5107(17)30081-7. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2017.06.004.</p> <p>2.</p>		

晩発効果研究部門

1. 原著論文

Hideki Muramatsu, Yusuke Okuno, Kenichi Yoshida, Yuichi Shiraishi, Sayoko Doisaki, Atsushi Narita, Hirotohi Sakaguchi, Nozomu Kawashima, Xinan Wang, Yinyan Xu, Kenichi Chiba, Hiroko Tanaka, Asahito Hama, Masashi Sanada, Yoshiyuki Takahashi, Hitoshi Kanno, Hiroki Yamaguchi, Shouichi Ohga, Atsushi Manabe, Hideo Harigae, Shinji Kunishima, Eiichi Ishii, Masao Kobayashi, Kenichi Koike, Kenichiro Watanabe, Etsuro Ito, Minoru Takata, Miharuru Yabe, Seishi Ogawa, Satoru Miyano, and Seiji Kojima. Clinical Utility of Next-generation Sequencing for Inherited Bone Marrow Failure Syndromes. *Genet Med.* 2017 Jan 19. doi: 10.1038/gim.2016.197.

Chen Ling, Jing Huang, Zhijiang Yan, Yongjiang Li, Mioko Ohzeki, Masamichi Ishiai, Dongyi Xu, Minoru Takata, Michael Seidman, and Weidong Wang. Bloom syndrome complex promotes FANCM recruitment to stalled replication forks and facilitates both repair and traverse of DNA interstrand crosslinks. *Cell Discov.* 2016 Dec 20;2:16047. doi: 10.1038/celldisc.2016.47. PMID: 28058110

Tian X, Patel K, Ridpath JR, Chen Y, Zhou YH, Neo D, Clement J, Takata M, Takeda S, Sale J, Wright FA, Swenberg JA, Nakamura J. Homologous recombination and translesion DNA synthesis play critical roles on tolerating DNA damage caused by trace levels of hexavalent chromium. *pLOSOne* 2016 Dec 1;11(12):e0167503. 10.1371/journal.pone.0167503.

Sato K, Shimomuki M, Katsuki Y, Takahashi D, Kobayashi W, Ishiai M, Miyoshi H, Takata M, Kurumizaka H. FANCI-FANCD2 stabilizes the RAD51-DNA complex by binding RAD51 and protects the 5'-DNA end. *Nucleic Acids Res.* 2016 Dec 15;44(22):10758-10771. DOI: 10.1093/nar/gkw876  
PMID: 27694619

Katsuki Y, Takata M. Defects in HR repair behind the human diseases: FA and HBOC. *Endocrine Related Cancer.* 2016 Oct;23(10):T19-37. doi: 10.1530/ERC-16-0221

Kiyohiro Hashimoto, Vyom Sharma, Hiroyuki, Sasanuma, Xu Tian, Minoru Takata, Shunichi Takeda, James Swenberg and Jun Nakamura. Poor recognition of O6-isopropyl dG by MGMT triggers double strand break-mediated cell death and micronucleus induction in FANCD1-deficient cells. *Oncotarget.* 2016 Sep 13;7(37):59795-59808. doi: 10.18632/oncotarget.10928.  
[Epub ahead of print] PMID: 27486975

Protocol Design for the Bench to Bed Trial in Alectinib-Refractory Non-Small-Cell Lung Cancer Patients Harboring the EML4-ALK Fusion Gene (ALRIGHT/OLCSG1405). Isozaki H, Hotta K, Ichihara E, Takigawa N, Ohashi K, Kubo T, Ninomiya T, Ninomiya K, Oda N, Yoshioka H, Ichikawa H, Inoue M, Takata I, Shibayama T, Kuyama S, Sugimoto K, Harada D, Harita S, Sendo T, Tanimoto M, Kiura K. *Clin Lung Cancer.* 2016 Jun 2. pii: S1525-7304(16)30110-3. doi: 10.1016/j.clcc.2016.05.005.

Effect of Vandetanib on Lung Tumorigenesis in Transgenic Mice Carrying an Activating Egfr Gene Mutation. Osawa M, Ohashi K, Kubo T, Ichikawa E, Takata S, Takigawa N, Takata M, Tanimoto M, Kiura K. *Acta Med Okayama*. 2016 Aug;70(4):243-53.

Trastuzumab Emtansine in HER2+ Recurrent Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer: Study Protocol. Ohashi K, Hotta K, Hirata T, Aoe K, Kozuki T, Ninomiya K, Kayatani H, Yanai H, Toyooka S, Hinotsu S, Takata M, Kiura K. *Clin Lung Cancer*. 2016 Jul 9. pii: S1525-7304(16)30184-X. doi: 10.1016/j.clcc.2016.06.014. [Epub ahead of print]  
PMID: 27497829

Yabe M, Yabe H, Morimoto T, Fukumura A, Ohtsubo K, Koike T, Yoshida K, Ogawa S, Ito E, Okuno Y, Muramatsu H, Kojima S, Matsuo K, Hira A, Takata M. The phenotype and clinical course of Japanese Fanconi Anaemia infants is influenced by patient, but not maternal ALDH2 genotype. *Br J Haematol*. 2016 Nov;175(3):457-461. doi: 10.1111/bjh.14243.

## 5. 講演

Pathogenesis of Fanconi anemia: an update. Minoru Takata. INTERNATIONAL CONFERENCE ON “REVOLUTION OF LABORATORY MEDICINE IN MODERN BIOLOGY” 15<sup>TH</sup> TO 17<sup>TH</sup> FEBRUARY 2017. NEHRU CENTER, MUMBAI, INDIA (招待講演)

第8回群馬大 Genome Damage Discussion Group セミナー「新規ファンコニ貧血原因遺伝子である RFWD3/FANCW の相同組換え修復における役割の解明」高田 穰 群馬大学臨床大学院講堂 12月21日 (招待講演)

第58回日本小児血液・がん学会学術集会 シンポジウム “Genetic basis for childhood bone marrow failure and malignancies” A novel Fanconi anemia gene regulates ICL repair and homologous recombination. Minoru Takata. 品川プリンスホテル 12月15-17日 (招待講演)

新規ファンコニ貧血遺伝子 RFWD3 による相同組換え修復制御メカニズム  
稲野将二郎、佐藤浩一、勝木陽子、石合正道、中田慎一郎、胡桃坂仁志、高田穰 九州大学 薬学部 藤田雅俊研究室 研究セミナー (招待講演)

Novel Fanconi anemia E3 ligase RFWD3 promotes removal of both RPA and RAD51 from DNA damage sites during ICL repair. Shojiro Inano, Koichi Sato, Kerstin Knies, Yoko Katsuki, Shinichiro Nakada, Akifumi Takaori-Kondo, Masamichi Ishiai, Detlev Schindler, Hitoshi Kurumizaka, Minoru Takata. 28th Annual Fanconi Anemia research fund Scientific Symposium. September 15-18, Bellevue, WA USA

Myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia in Japanese Fanconi anemia patients. Miharu Yabe, Tsuyoshi Morimoto, Akiko Fukumura, Keisuke Ohtsubo, Takashi Koike, Takashi Shimizu, Hiromitsu Takakura, Katsuyoshi Koh, Etsuro Ito, Seiji Kojima, Asuka Hira, Minoru Takata and Hiromasa Yabe. 28th Annual Fanconi Anemia Research Fund Scientific Symposium. September 15-18, Bellevue, WA USA

Minoru Takata. A novel Fanconi anemia E3 ubiquitin ligase RFWD3 functions in DNA repair. The 32<sup>nd</sup> International Symposium of Radiation Biology Center, Kyoto University 2016. Kyoto. Sep. 1-2. 2016.

相同組換えにおける RPA および RAD51 の動態制御は RFWD3 によるユビキチン化に依存する。稲野将二郎、佐藤浩一、勝木陽子、石合正道、中田慎一郎、胡桃坂仁志、高田 穰。第 75 回日本癌学会学術総会 シンポジウム 18 がんにおける染色体・ゲノム不安定性の分子基盤。横浜市パシフィコ横浜 2016 年 10 月 6-8 日 (公募より採択)

An E3 ligase RFWD3 is a critical component that facilitates RPA and RAD51 dynamics in homologous recombination. 稲野将二郎、佐藤浩一、勝木陽子、中田慎一郎、石合正道、胡桃坂仁志、高田 穰。放射線影響学会第59回大会 ワークショップ「放射線・ゲノムストレスに対抗する多彩な生命システムの解明に向けて」10月26日 広島 アステル広島 (招待講演)

イントロダクション 石合正道 放射線影響学会第59回大会  
ワークショップ「放射線・ゲノムストレスに対抗する多彩な生命システムの解明に向けて」10月26日 広島 アステル広島

一般口演「損傷応答キナーゼ活性が相同組換え修復に与える影響」田部井由依、大橋由佳、坂本裕貴、小摩木里奈、穀田 哲也、勅使河原愛、飯島健太、高田 穰、小松賢志、田内 広。放射線影響学会第59回大会 広島 10月26-28日  
アステル広島

## 6. ポスター発表

「DT40 ノックアウト細胞パネルを用いたグルコース枯渇下で細胞致死性作用を持つ Biguanide 薬剤の作用機序の解析」。角田圭、森脇隆仁、藤池春奈、津田雅貴、笹沼博之、高田 穰、武田俊一、増永慎一郎、田野恵三。放射線影響学会第59回大会。広島 10月26-28日、アステル広島

Novel Fanconi anemia E3 ligase RFWD3 regulates RPA and RAD51 degradation to facilitate homologous recombination and ICL repair. Shojiro Inano, Koichi Sato, Yoko Katsuki, Shinichiro Nakada, Akifumi-Takaori0Kondo, Masamichi Ishiai, Detlev Schindler, Hitoshi Kurumizaka, Minoru Takata. DNA metabolism, Genomic stability, & Diseases. The 2016 Cold Spring Harbor Asia Conference June 13-17, 2-16. Dushu Lake Conference HOel, CSHA conference Center, Suzhou, China

Common variable immunodeficiency caused by FANC mutations. Yujin Sekinaka,<sup>1</sup> Noriko Mitsuiki,<sup>2</sup> Kohsuke Imai, Miharuru Yabe, Hiromasa Yabe, Masatoshi Takagi, Ayako Arai, Kenichi Yoshida, Yusuke Okuno, Yuichi Shiraishi, Kenichi Chiba, Hiroko Tanaka, Satoru Miyano, Seiji Kojima, Asuka Hira, Minoru Takata, Osamu Ohara, Seishi Ogawa, Tomohiro Morio, and Shigeaki Nonoyama, ESID2016 (欧州免疫不全症学会、9/21-24)

## ゲノム動態研究部門

### 1. 原著論文

Sowa T, Menju T, Chen-Yoshikawa TF, Takahashi K, Nishikawa S, Nakanishi T, Shikuma K, Motoyama H, Hijiya K, Aoyama A, Sato T, Sonobe M, Harada H, Date H. Hypoxia-inducible

factor 1 promotes chemoresistance of lung cancer by inducing carbonic anhydrase IX expression. *Cancer Medicine*. in press.

Daijo H, Hoshino Y, Kai S, Suzuki K, Nishi K, Matsuo Y, Harada H, Hirota K. Cigarette smoke reversibly activates hypoxia-inducible factor 1 in a reactive oxygen species-dependent manner. *Scientific Reports*. 6:34424. 2016.

Yeom CJ, Zeng L, Goto Y, Morinibu A, Zhu Y, Shinomiya K, Kobayashi M, Itasaka S, Yoshimura M, HurCG, Kakeya H, Hammond EM, Hiraoka M, \*Harada H. LY6E: a conductor of malignant tumor growth through modulation of the PTEN/PI3K/Akt/HIF-1 axis. *Oncotarget*. 11670. 2016.

Yamaguchi R, Harada H, Hirota K. VHL-deficient renal cancer cells gain resistance to mitochondria-activating apoptosis inducers by activating AKT through the IGF1R-PI3K pathway. *Tumor Biology*. 37:13295-13306. 2016

Gaowa A, Horibe T, Kohno M, Harada H, Hiraoka M, Kawakami K. Potent anti-tumor effects of EGFR-targeted hybrid peptide on mice bearing liver metastases. *Clin Exp Metastasis*. 33:87-95. 2016.

Koyasu S, Tsuji Y, Harada H, Nakamoto Y, Nobashi T, Kimura H, Sano K, Koizumi K, Hamaji M, Togashi K. Evaluation of tumor-associated stroma and its relationship with tumor hypoxia using dynamic contrast-enhanced CT and 18F-misonidazole PET in murine tumor models. *Radiology*. 278:734-741. 2016.

Olcina MM, Leszczynska K, Senra JM, Isa N, Harada H, Hammond EM. H3K9me3 facilitates hypoxia-induced p53-dependent apoptosis through repression of APAK. *Oncogene*. 35:793-799. 2016.

Shimada M, Matsuzaki F, Kato A, Kobayashi J, Matsumoto T, Komatsu K. Induction of Excess Centrosomes in Neural Progenitor Cells during the Development of Radiation-Induced Microcephaly. *PLoS One*. 11:e0158236. 2016.

Shimura T, Kobayashi J, Komatsu K, Kunugita N. Severe mitochondrial damage associated with low-dose radiation sensitivity in ATM- and NBS1-deficient cells. *Cell Cycle*. 15:1099-1107. 2016.

Katoh S, Kobayashi J, Umeda T, Kobayashi Y, Izumo N, Suzuki T. X-ray Irradiation Promotes Nerve Growth Factor-induced Neurite Extension in PC12 Cells. *Radioisotopes*. 65:137-143. 2016.

Igarashi K, Kobayashi J, Katsumura T, Urushihara Y, Hida K, Watanabe-Asaka T, Oota H, Oda S, Mitani H. An Approach to Elucidate NBS1 Function in DNA Repair Using Frequent Nonsynonymous Polymorphism in Wild Medaka (*Oryzias latipes*) Populations. *PLoS One*. 12:e0170006: 2017.

Shimura T, Sasatani M, Kawai H, Kamiya K, Kobayashi J, Komatsu K, Kunugita N. A comparison of radiation-induced mitochondrial damage between neural progenitor stem cells and differentiated cells. *Cell Cycle*. in press.

Zhou H, Kawamura K, Yanagihara H, \*Kobayashi J, Zhang-Akiyama Q. NBS1 is regulated by two kind of mechanisms; ATM-dependent complex formation with MRE11 and RAD50 and cell cycle dependent-degradation of protein. *J Radiat Res*. in press.

## 2. 総説

\*Harada H. Hypoxia-inducible factor 1-mediated characteristic features of cancer cells for tumor radioreistance. *J Radiat Res.* 57:99-105. 2016.

\*Komatsu K. NBS1 and multiple regulations of DNA damage response. *J Radiat Res. Suppl* 1:i11-i17. 2016.

## 4. 著書

原田浩. 放射線によるシグナル伝達の変化. 放射線医科学 (大西武雄監修) (株) 医療科学社. 29-31. 2016.

小林純也. ヒトの高感受性遺伝病. 放射線医科学 (大西武雄監修) (株) 医療科学社. 44-46. 2016.

小松賢志. 現代人のための放射線生物学. 京都大学学術出版会. 全342ページ. 2017.

## 5. 学会発表

### 招待講演

原田浩. 腫瘍の微小環境と放射線感受性. 日本放射線腫瘍学会 第7回 放射線生物学セミナー. 東京. Jan. 28. 2017.

原田浩. 現代生物学が放射線治療に指し示すもの. 九州放射線治療システム研究会. Jan. 28. 2017.

原田浩. IDH3-HIF-1経路によるがん細胞の糖代謝リプログラミング. 日本がん分子標的治療学会 第12回トランスレーショナルリサーチワークショップ. 東京. Jan 17-18. 2017.

原田浩. がんの悪性化と治療抵抗性を左右する「腫瘍内微小環境」. 京都大学丸の内セミナー. 東京. Dec. 2. 2016.

原田浩. がん・低酸素・HIF-1. 京都薬科大学病態生理学セミナー. 京都. Nov. 25. 2016.

Harada H. The Past and Future of Biological Research for Radiation Oncology. The 29<sup>th</sup> Annual Meeting of Japanese Society of Radiation Oncology. Kyoto. Nov. 25-27. 2016.

Goto Y, Hiraoka M, Harada H. Tumor hypoxia and radioresistance. The 29<sup>th</sup> Annual Meeting of Japanese Society of Radiation Oncology. Kyoto. Nov. 25-27. 2016.

原田浩. 悪性固形腫瘍内の微小環境と放射線抵抗性. 熊本放射線腫瘍研究会. 熊本. Nov. 18. 2016.

原田浩. がん・低酸素・HIF-1. Forum in Dojin. 熊本. Oct. 28-29. 2016.

原田浩. HIF-1を中心とする活性酸素ストレス応答の分子基盤と機能. 日本放射線影響学会第59回大会. 広島. Oct. 26-28. 2016.

Harada H. Function of the UCHL1-HIF-1 Axis in Distant Metastasis and Radioresistance of Cancer Cells. The 32<sup>nd</sup>. International Symposium of Radiation Biology Center, Kyoto University 2016. Kyoto. Sep. 1-2. 2016.

原田浩. 放射線生物学・最近の話題 -低酸素とがん幹細胞-. 日本放射線腫瘍学会 (JASTRO) 夏季セミナー. 名古屋. Aug 6-7. 2016.

原田浩. がん細胞の糖代謝経路と放射線抵抗性のクロストーク. 第45回放射線による制癌シンポジウム. 大阪. Jul 15. 2016.

Harada H. Radioresistance of Cancer Cells; Lessons from HIF-1 Biology. Annual Meeting of Association for Radiation Research 2016. Leicester. UK. Jun 27-29. 2016.

Harada H. Tumor Hypoxia; a Potent Inducer of Malignant Phenotypes and Radioresistance of Cancer Cells. The 2nd KU RBC-CEA Joint Workshop. Kyoto. Apr 11-12. 2016.

小林純也. 低線量率放射線照射による細胞内ROS上昇とDNA損傷応答との関係. 日本放射線影響学会第59回大会. 広島. Oct. 26-28. 2016.

小林純也. NBS1の複合体形成とその機能: 制癌ターゲットとしての可能性. 第45回放射線による制癌シンポジウム. 大阪. Jul 15. 2016.

小林純也. 核小体関連タンパク質nucleolinによるDNA複製ストレス応答の制御. 第39回日本分子生物学会年会. 横浜. Nov. 30-Dec. 2. 2016

Kobayashi J. Oxidative stress and DNA damage responses under low dose rate irradiation. The 2nd KU RBC-CEA Joint Workshop. Kyoto. Apr 11-12. 2016.

## 6. 一般発表 (口頭、ポスター)

中島良太、後藤容子、子安翔、小林稔、森嶋章代、吉村通央、平岡真寛、HAMMOND EM、原田浩. UCHL1-HIF-1経路の阻害による放射線治療抵抗性改善の可能性. 第19回癌治療増感研究シンポジウム. 奈良. 2017年2月4日.

堤ゆり江、吉村通央、平岡真寛、原田浩. HIF-1陽性低酸素がん細胞が放射線治療後の再発に及ぼす影響. 第19回癌治療増感研究シンポジウム. 奈良. 2017年2月4日.

Tsutsumi Y, Yoshimura M, Hiraoka M, Harada H. The Influence of hypoxic cancer cells on recurrence after irradiation. The 29th Annual Meeting of Japanese Society of Radiation Oncology. Kyoto. Nov. 25-27. 2016.

小林稔、子安翔、原田浩. 放射線被ばくが主要臓器に及ぼす影響に迫る「遺伝子改変動物を用いた時空間解析」新学術領域「宇宙に生きる」研究若手サマーセミナー. 筑波. 2016年8月5-6日.

堤ゆり江、吉村通央、平岡真寛、原田浩. 低酸素がん細胞が放射線治療後の再発に及ぼす影響. 第22回癌治療増感研究会学術総会. 沖縄. 2016年7月2日.

Koyasu S, Morinibu A, Hammond EM, Harada H. A novel HIF-1-promoting factor, HPF-4, as a target for radio-sensitization. The 2nd KU RBC-CEA Joint Workshop. Kyoto. Apr 11-12. 2016.

斎藤裕一郎、井原誠、平山亮一、小林純也、小松賢志. 相同組換え活性の線量依存的抑制機構. 第59回日本放射線影響学会, 広島, Oct 26-28. 2016

河村香寿美、加藤竹雄、松浦伸也、小松賢志、小林純也. 日本人 AT-LD 患者における MRE11 変異部位と DNA 損傷応答異常との関係. 日本放射線影響学会第59回大会. 広島. Oct 26-28. 2016.

周慧、斎藤裕一郎、小林純也、秋山(張)秋梅、小松賢志. アフラトキシン B1 の突然変異誘発メカニズムにおける NBS1 の役割. 第59回日本放射線影響学会. 広島 Oct 26-28. 2016

## 6. 一般発表 (ポスター)

小林稔、森嶋章代、子安翔、後藤容子、平岡真寛、原田浩. Molecular mechanisms underlying the crosstalk between period circadian clock 2 (PRE2) and hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1). 第14回がんとハイポキシア研究会. 岐阜. 2016年11月4日.

Kobayashi M, Harada H. Molecular mechanisms underlying the crosstalk between circadian clock gene, PRE2, and hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1). The 75<sup>th</sup> Annual Meeting of Japanese Cancer Association. Yokohama. Oct. 6-8. 2016.

Koyasu S, Morinibu A, Hammond EM, Harada H. A novel HIF-1-promoting factor, HPF-4, may promote tumor invasiveness. The 32<sup>nd</sup>. International Symposium of Radiation Biology Center, Kyoto University 2016. Kyoto. Sep. 1-2. 2016.

Kobayashi M, Morinibu A, Koyasu S, Goto Y, Nakashima R, Hiraoka M, Harada H. Molecular mechanisms underlying the crosstalk between circadian clock gene, PRE2, and hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1). The 32<sup>nd</sup>. International Symposium of Radiation Biology Center, Kyoto University 2016. Kyoto. Sep. 1-2. 2016.

Tsutsumi Y, Koyasu S, Kobayashi M, Morinibu A, Yoshimura M, Goto Y, Hiraoka M, Harada H. The involvement of hypoxic cancer cells in tumor recurrence after radiotherapy. The 32<sup>nd</sup>. International Symposium of Radiation Biology Center, Kyoto University 2016. Kyoto. Sep. 1-2. 2016.

Kato A, Yanagihara H, Komatsu K. NBS1 controls homologous recombination and non-homologous end joining in different ways. The 10th International 3R Symposium. Matsue. Nov 13-17. 2016

加藤晃弘、柳原啓見、小松賢志. NBS1 の新規 C 末端ドメインは NHEJ の亢進に關与する. 第 34 回染色体ワークショップ・第 15 回核ダイナミクス研究会. 木更津市). Jan 11-13. 2017.

## 放射線システム生物学研究部門

### 1. 原著論文

Induction of Excess Centrosomes in Neural Progenitor Cells during the Development of Radiation-Induced Microcephaly. Mikio Shimada, Fumio Matsuzaki, Akihiro Kato, Junya Kobayashi, Tomohiro Matsumoto and Kenshi Komatsu. PLoS ONE 11(7): e0158236.(2016).

Ikura, M., Furuya, K. (equally contributed first author), Fukuto, A., Matsuda, R., Adachi, J., Matsuda, T., Kakizuka, A. & \*Ikura, T., Coordinated Regulation of TIP60 and Poly(ADP-Ribose)-Polymerase 1 in Damaged-Chromatin Dynamics., *Mol. Cell. Biol.*, 2016, Vol. 36, 1595-1607. (査読あり)

### 5. 招待講演

古谷 寛治: 「DNA 損傷に対する細胞周期進行の頑強性を付与する DNA 損傷チェックポイントダイナミクス」第 89 回日本生化学会大会、シンポジウム「細胞のロバストネスを規定するタンパク質複合体のダイナミクス」2016 年 9 月 25-27 日、仙台 (オーガナイザーとしても参画)

### 6. その他学会発表

「ゲノムストレス応答の多様性を数理的アプローチで理解する」  
井倉毅、白木琢磨、古谷寛治、井倉正枝  
第 39 回 日本分子生物学会年会 横浜 2016 年 11 月 30 日-  
12 月 2 日、シンポジウム『ちいさな数理の見つけ方』

### 6. 一般発表 (ポスター)

「DNA チェックポイント因子 Rad9 の機能制御を担う Cdk-Plk1 依存的経路の意義」  
郡司未佳、井倉正枝、脇田健史、川本卓男、井倉毅、古谷寛治、第 39 回 日本分子生物学会年会 横浜 2016 年 11 月 30 日-12 月 2 日

「A Prey-Predator Interspecies Genetic Approach to Understanding the Nutrient Basis of Budding Yeast Driving *Drosophila* Larval Development」  
Yuuki Takahashi, Yukako Hattori, Akihiko Mori, Kaori Watanabe, Kanji Furuya, Tadashi Uemura  
日本分子生物学会年会 横浜 2016 年 11 月 30 日-12 月 2 日

## 突然変異研究部門

### 1. 論文

Kakumu E, Nakanishi S, Shiratori HM, Kato A, Kobayashi W, Machida S, Yasuda T, Adachi N, Saito N, Ikura T, Kurumizaka H, Kimura H, Yokoi M, Sakai W, Sugawara K (2017). Xeroderma pigmentosum group C protein interacts with histones: regulation by acetylated states of histone H3. *Genes Cells*. 22. 310-327.

Aihara H, Nakagawa T, Mizusaki H, Yoneda M, Kato M, Doiguchi M, Imamura Y, Higashi M, Ikura T, Hayashi T, Kodama Y, Oki M, Nakayama T, Cheung E, Aburatani H, Takayama KI, Koseki H, Inoue S, Takeshima Y, Ito T (2016). Histone H2A T120 Phosphorylation Promotes Oncogenic Transformation via Upregulation of Cyclin D1. *Mol. Cell*. 64. 176-188.

Kaimori, J., Maehara, K., Hayashi-Takanaka, Y., Harada, A., Fukuda, M., Yamamoto, S., Ichimaru, N., Umehara, T., Yokoyama, S., Matsuda, R., Ikura, T., Nagao, K., Obuse, C., Nozaki, N., Takahara, S., Takao, T., Ohkawa, Y., Kimura, H., Isaka, Y (2016). Histone H4 lysine 20 acetylation is associated with gene repression in human cells. *Sci Rep*. 6: 24318

Ikura, M., Furuya, K., Fukuto, A., Matsuda, R., Adachi, J., Matsuda, T., Kakizuka A., Ikura, T (2016). Coordinated regulation of TIP60 and PARP-1 in damaged chromatin dynamics. *Mol Cell Biol*. 36. 1595-1607.

Matsuda, S., Matsuda, Y., Yanagisawa, SY., Ikura, M., Ikura, T., Matsuda, T (2016). Disruption of DNA Damage-response by Propyl Gallate and 9-Aminoacridine. *Toxicol Sci*. 151. 224-235.

### 5. 招待講演

「クロマチンの動的変化に着目したゲノム損傷応答の多様性の理解」  
井倉 毅 変位機構研究会・第 29 回 夏の学校  
平成 28 年 9 月 10 日(土)-11 日(日) 京都府立ゼミナールハウス 京都府京北町

がん研究入門コース 1 「がん研究におけるクロマチン生物学」  
井倉 毅 第 75 回日本癌学会学術総会 平成 28 年 10 月 8 日(土)  
パシフィコ横浜 横浜市

「DNA 損傷応答におけるヒストン H2AX 複合体モジュールのダイナミクス」井倉 毅 古谷寛治、白木琢磨、井倉正枝  
第 89 回 日本生化学会大会 シンポジウム「細胞のロバストネスを規定する蛋白質複合体のダイナミクス」平成 28 年 9 月 26 日(月) 東北大学 仙台市

「ゲノムストレス応答の多様性を数理的アプローチで理解する」  
井倉 毅、白木琢磨、古谷寛治、井倉正枝  
第 39 回 日本分子生物学会年会 シンポジウム「ちいさな数理の見つけ方」平成 28 年 12 月 2 日(金)パシフィコ横浜 横浜市

「タンパク質複合体解析の現状と今後への挑戦」

井倉 毅、岡崎フラグメント 50 周年シンポジウム「DNA 複製の過去、現在、未来-ゲノム複製からエピゲノム複製へ」平成 28 年 12 月 22 日(木)名古屋大学 名古屋市

## 6. ポスター発表

Molecular mechanism of etoposide induced 11q23 chromosome translocations.  
Jiyang Sun, Akiko Kinomura, Masahiko Harata, Tsuyoshi Ikura, Satoshi Tashiro  
第 89 回 日本生化学会大会 9 月 25 日(水) 仙台国際センター 仙台市

Molecular mechanism of etoposide induced 11q23 chromosome translocations.  
孫 継英 木野村 愛子 原田 昌彦 井倉 毅 田代 聡  
日本放射線影響学会 第 59 回大会 10 月 27 日(木)  
JMS アステールプラザ 広島市

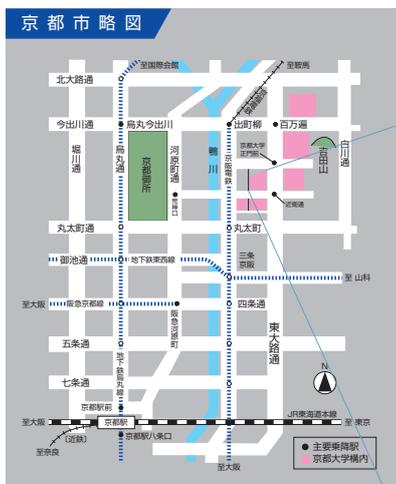
リンカーヒストン H1 を含むクロマチンでの相同組換え反応  
町田晋一 井倉正枝 孫 継英 小林 航 堀越保則 福戸敦彦 田代 聡 井倉  
毅 胡桃坂 仁志  
第 39 回 日本分子生物学会年会 11 月 30 日(水) パシフィコ横浜 横浜市

RAD51 による相同組換え修復の制御機構  
堀越保則 島 弘季 河野一樹 鈴木秀和 松田 俊 Volker J Schmid. 福戸 敦彦  
木野村愛子 孫 継英 松田知成 井倉 毅 楯 真一 五十嵐 和彦  
Marion Cremer, Thomas Cremer, 田代 聡  
第 39 回 日本分子生物学会年会 11 月 30 日(水) パシフィコ横浜 横浜市

DNA チェックポイント因子 Rad9 の機能制御を担う Cdk-Plk1 依存的機構の意義  
郡司 未佳 井倉正枝 脇田 健史 川本卓男 井倉 毅 古谷寛治  
第 39 回 日本分子生物学会年会 11 月 30 日(水) パシフィコ横浜 横浜市

がん細胞で高頻度におこるヒストン H2B 点変異体はヌクレオソーム構造および細胞増殖に影響を与える  
野田真美子 有村泰宏 藤田理沙 井倉(野村)正枝 岩崎 健 孫 継英  
小林 航 田代 聡 大川 恭行 木村 宏 井倉 毅 胡桃坂 仁志  
第 39 回 日本分子生物学会年会 12 月 2 日(金) パシフィコ横浜 横浜市





**京都大学放射線生物研究センター**  
 〒606-8501 京都市左京区吉田近衛町  
 TEL:075-753-7551 FAX:075-753-7564  
 URL:<http://www.rbc.kyoto-u.ac.jp/>