

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

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参りました。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、第三期中期目標・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。

その後、国立大学を取り巻く改革への機運が高まる状況下、京大内部でも人事を行う組織として2016年度に「学域・学系制度」が立ち上がり、我々放射線生物研究センターは大学院生命科学研究科とともに「生命科学系」を構成いたしました。これに伴い開始された議論を持って、放射線生物研究センターは、2018年4月より生命科学研究科の附属センターと位置付けられ、生命科学研究科から3名の教員を加えてより広範な分野をカバーする拠点として生まれ変わることになりました。放射線影響学会始め研究者コミュニティのリーダーの先生方には好意的なご理解をいただき、さらに、文部科学省学術機関課や京大本部のサポートによって十分な制度上の検討を行った上でのことでもあります。

当センターは、今後も放生研は独立性やガバナンスを保った形で拠点活動に邁進してまいります。特に、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、さらに幅広い生命科学の分野を視野に入れた拠点活動の深化、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、2017年度の年報に相当する内容として、拠点活動の中心である共同利用課題研究報告書を年報としてまとめ刊行するにあたり、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。

2018年10月

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。
		平成30年 4月	生命科学研究科と統合

## 3. 共同利用実験機器



低線量長期放射線照射室



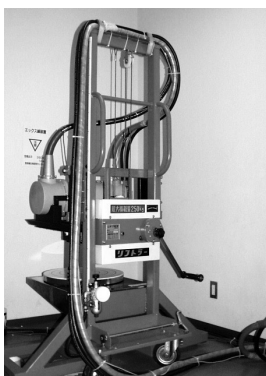
ガンマーセル



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





平成29年度 共同利用採択一覧

	研究課題	氏名	所属	頁
1	ヒトリンパ細胞株を用いた相同DNA組換え機構の解析 Analysis of DNA damage response using the human TK6 cell line	武田 俊一	京大・医学	P10
2	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	P12
3	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	P13
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影 響解析 Analysis of low doses of ionizing radiation on mitochondrial damage in radiosensitive cell lines	志村 勉	国立保健医療 科学院	P15
5	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 Comparative analysis of whole genome CNV/Indel and replication fork abnormality induced by oncogen overexpression and ionizing radiation	香崎 正宙	産業医科大学・ 産業生態科学 研究所	P16
6	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	P17
7	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・理学	P18
8	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・生命 科学部	P19
9	T細胞の発生と分化に関する研究 Development and differenatiation of T cells	濱崎 洋子	京大・医学	
10	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	P20

平成29年度 共同利用採択一覧

	研究課題	氏名	所属	頁
11	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・原爆後 障害医療研	P21
12	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・放 射線科学研究 センター	P22
13	ヒト樹状細胞の機能解析 Analysis of human dendritic cell functions	北脇 年雄	京大・医病	P24
14	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	P25
15	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 deliverly system for targeting circulating microRNA	山吉 麻子	京大・白眉セン ター	P26
16	DNA二本鎖切断修復におけるアルデヒド分解酵素の役割 Roles for the fatty aldehyde dehydrogenase in DNA double in strand break response and repair	酒井 恒	神戸大学・バイ オシグナル総 合研究センター	P28
17	DNA損傷トランスにおけるユビキチン化システムの役割 Roles of ubiquitination systems in DNA damage tolerance	益谷 央豪	名古屋大・環境 医学研	P29
18	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 Though Non-Homologous End Joinig	松本 義久	東京工業大学・ 科学技術創成 研究院	P30
19	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・理工学 府	P31
20	植物のDNA損傷応答の解析 Research for DNA damage response in plants	梅田 正明	奈良先端大バ イオサイエンス	P32

平成29年度 共同利用採択一覧

	研究課題	氏名	所属	頁
21	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・理学	P33
22	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・理工	P34
23	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・理学	P35
24	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・原医研	P37
25	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・理学	P38
26	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 or genomic stresses to telomere stability in HUVEC cells	阿武 久美子	広島文教女子大・人間科学部	P39
27	放射線照射によって引き起こされる染色体切断を利用したコムギの遺伝学的研究 Genetic Studies utilizing radiation-induced chromosome breakage in wheat	那須田 周平	京大・国際高等教育院(併任: 農学研究科)	
28	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・整形外科	P40
29	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・薬学	
30	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・医学	P41

平成29年度 共同利用採択一覧

	研究課題	氏名	所属	頁
31	ヒト $\gamma$ -H2AX/H2B複合体の解析 Analyses of human $\gamma$ -H2AX/H2B complex	関 政幸	東北医科薬科大学・薬学	P42
32	がん関連ヒストン変更による、がん化機構の解明 Molecular analyses of cancer associated histone mutations	胡桃坂 仁志	早稲田大学・理工学術院	P43
33	DNA損傷修復における核内アクチンファミリーの機能解析 Roles of nuclear actin family proteins in DNA damage repair	原田 昌彦	東北大学・農学	P44
34	大腸癌肝転移に対するインスリン様増殖因子中和抗体治療におけるマトリックスプロテアーゼ7のバイオマーカーとしての有用性 Evaluation of matrix metalloproteinase 7 as a predictive biomarker in the insulin like growth factor neutralizing antibody treatment against liver metastasis of colon carcinoma	宮本 心一	京大・医病	P45
35	低酸素における代謝酵素の細胞内分布変動の解析 Analysis of the intracellular distribution of metabolism enzymes under hypoxic condition	甲斐 慎一	京大・医病	
36	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	
37	膵 $\beta$ 細胞イメージングに関する研究 Development of noninvasive pancreatic beta cell imaging method	藤本 裕之	京大・RI	P46
38	細胞内部の酸素状態に対するゼラチンハイドロゲルマイクロスフェアの効果 Effect of gelatin hydrogel microsphere to oxygen condition of artificial tissues	田畑 泰彦	京大・ウイルス・再生	
39	マウスモデルと臨床材料を用いた消化器がん転移の研究 investigation of gastrointestinal cancer metastasis in mice and patient derived tumor samples	武藤 誠	京大・医学	P47
40	DNA損傷チェックポイント因子RAD9ホモログの進化における機能変遷 The evolutionary analysis of DNA damage sensor checkpoint proteins	小柳 香奈子	北海道大学・情報科学	P48

平成29年度 共同利用採択一覧

	研究課題	氏名	所属	頁
41	シロイヌナズナにおける分化した組織でのDNA損傷応答の解析 DNA damage response occurred in differentiated tissues in <i>A.thaliana</i>	愿山 郁	京都産業大学・総合生命科学部	P49
42	細胞レベルでの電波による遺伝的背景への影響調査 Influence on the genetic background by exposure to electromagnetic fields at the cellular level	宮越 順二	京大・生存圏	P50
43	ヌクレオチド除去修復に関与する新規遺伝子の探索 Screening of novel genes involved in nucleotide excision repair	丹伊田 浩行	浜松医科大学・分子生物学	P51
44	pH応答性色素の開発と評価 Synthesis and Evaluation of pH-Responsive Dyes	三木 康嗣	京大・工学	P52
45	モヤモヤ病感受性遺伝子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・医学	
46	ヌードマウスでの増殖に及ぼす小胞体ストレス応答関連遺伝子破壊の影響解析 Analysis of effect of knocking out genes involved in the unfolded protein response on growth in nude mice	森 和俊	京大・理学	P53
47	ヒト細胞におけるビグアニド薬剤メトホルミンのグルコース枯渇下での選択的致死性の解析 Analysis of cytotoxicity of a biguanide drug, metformin, in glucose-deprived human cells	田野 恵三	京大・原子炉実験所	P54
48	虚血負荷による初代培養系グリア細胞の機能・形質変化の解析 Analysis of primary glial cells to hypoxia in vitro.	眞木 崇州	京大・医病	P55
49	nanobodyによる細胞内蛋白を標的としたがん治療の確立 Establishment of cancer therapy by nanobodies targeting transcription factors	稲野 将二郎	関西電力研究所	P56
50	活性化B細胞様びまん性大細胞型B細胞リンパ腫モデルマウスの作出 Establishment of mouse models for activated B-cell like diffuse large B-cell lymphoma	岩井 一宏	京大・医学	P57



平成29年度 共同利用採択一覧

	研究課題	氏名	所属	頁
51	代謝拮抗剤によるDNA損傷応答に関する研究 DNA damage response induced by antimetabolites	北尾 洋之	九州大学・薬学	P58
52	DNA損傷に応答し揺らぐヘテロクロマチン領域のメカニズム解明 Analysis of fluctuating Heterochromatin region by DNA damage	沖 昌也	福井大学・学術 研究院	P59
53	二種の分裂酵母を用いたゲノムDNA損傷応答機構の多様性の考察 Distinction of genome DNA damage response between two different fission yeasts	仁木 宏典	国立遺伝学研 究所・原核生物 遺伝研究	P60
54	転写反応と共役したDNA二本鎖切断修復反応機構の解析 Analyses of transcription-coupled DBS repair system	倉岡 功	福岡大学理学	P61
55	放射線照射がもたらすNRF2複合体の変化と その生物学的意義の解析 Modulation of NRF2 nuclear complex in response to gamma- irradiation	本橋 ほづみ	東北大学・加齢 医学研究所	P62
56	細胞内代謝の放射線による変動解析 Effects of radiation cellular metabolism	白木 琢磨	近大・生物理工 学	P63
57	大腸癌悪性化におけるPD-1/CCR1 阻害併用療法の検討 PD-1/CCR1 Inhibitor Study for Colorectal Cancer	河田 健二	京大・医学	P64
58	メダカの精巣を用いた低線量率放射線被ばく影響の解析 Analysis of the low-dose-rate irradiation in medaka testis	三谷 啓志	東大・新領域	P65
59	アリ科女王の貯蔵精子の不動態メカニズム Mechaisms of sperm immobilization stored in and queens	後藤 彩子	甲南大・理工学 部	P66
60	乳癌の脂肪酸代謝の低酸素応答に関する研究 The effect of hypoxia on fatty acid metabolim of breast cancer	川島 雅央	京大・医学	P67

平成29年度 共同利用採択一覧

	研究課題	氏名	所属	頁
61	放射線による核小体ストレス応答機構の制御と 新規放射線治療戦略の開拓 Nucleolar stress response by radiation and a novel radiation therapy	河原 康一	鹿児島大・医歯 薬	P68
62	Chk1シグナル経路を分子標的とした抗がん治療法の確立 Establishment of molecular target therapy against Chk-1mediated signaling pathway	後藤英仁	愛知県がんセ ンター・腫瘍医 化学部	P69
63	放射線によるDNA損傷の修復応答へのポリADP-リボシル化の 関与の解析 Involvement of polyADP-ribosylation in DNA repair response after DNA damage induced by radiation	益谷美都子	長崎大学・医歯 薬	P70
64	がん細胞転移におけるRECK遺伝子の役割 Role of RECK in cell metastases	吉田 陽子	京大・医学	P71
65	哺乳類細胞における低線量電離放射線ストレス応答機構の解析 The molecular mechanism of low-dose ionizing radiation-induced stress response in mammalian cells	石川 冬木	京大・生命	P72

研究題目	ヒト B リンパ細胞株を用いた相同 DNA 組換え機構の解析 Analysis of DNA damage response using the human TK6 cell line		
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
	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
	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
	POLASH Ahsan Habib	京大・医・放射線遺伝学	大学院生
	MAHMUD Md Rasel Al	京大・医・放射線遺伝学	大学院生
	NAJNIN Rifat Ara	京大・医・放射線遺伝学	大学院生
	清水 直登	京大・医・放射線遺伝学	大学院生
	IBRAHIM Mahmoud	京大・医・放射線遺伝学	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病的 Top2cc が蓄積することを見出した(<i>Mol Cell</i> 2016)。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。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、G1 期において、まず Mre11 が Top2 を 5'切断端から除去し、次に非相同末端結合が修復する。2017 年度には、G1 期において Mre11 の活性を BRCA1 は調節していることを解明した (<i>PNAS USA</i> に論文発表予定)。</p> <p><u>ALC1/CHD1L は、塩基除去修復の主要構成因子である</u> ALC1/CHD1L は、ポリ ADP リボースに結合するドメインと ATPase 活性ドメインをもつ。siRNA ALC1 で処理した細胞は過酸化水素に感受性を示す。しかしこの感受性の原因は様々な可能性があり、ALC1 が塩基除去修復に関与しているか否か不明であった。本研究は、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した (論文 1, 4.)。我々は、ALC1 欠損細胞が PARP1 欠損細胞と同レベルの過酸化水素感受性とアルキル化剤感受性を示すことを見つけた。</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> Ara-C (シタラビン)は複製酵素に取込まれた後、Pol <math>\delta</math> の校正活性によって効率よく除去</p>		

されることが解った。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 複製を阻害することも発見した。本研究は、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した（論文 10.）。

研究発表

〈論文発表〉

1. Ooka M, Abe T, Cho K, Koike K, Takeda S, Hirota K. (2018) Chromatin remodeler ALC1 prevents replication-fork collapse by slowing fork progression. *PLoS One* 13 (2): e0192421.
2. Rakers C, Najnin RA, Polash AH, Takeda S, Brown JB. (2018) Chemogenomic active learning's domain of applicability on small, sparse qHTS matrices: a study using CYP450 and nuclear hormone receptor families. *ChemMedChem*. 13 (6): 511-521.
3. Sanada Y, Sasanuma H, Takeda S, Tano K, Masunaga SI. (2018) Disruption of Hif-1 $\alpha$  enhances cytotoxic effects of metformin in murine squamous cell carcinoma. *Int J Radiat Biol*. 94 (1): 88-96.
4. Tsuda M, Cho K, Ooka M, Shimizu N, 著者 12 名, Hiraoka M, Koike K, Pommier Y, Takeda S, Hirota K. (2017) ALC1/CHD1L, a chromatin-remodeling enzyme, is required for efficient base excision repair. *PLoS One* 12 (11): e0188320.
5. Çaglayan M, 著者 3 名, Kadoda K, Tsuda M, Sasanuma H, Takeda S, Tano K, Copeland WC, Wilson SH. (2017) Complementation of aprataxin deficiency by base excision repair enzymes in mitochondrial extracts. *Nucleic Acids Res*. 45 (17): 10079-10088.
6. Kadoda K, Moriwaki T, Tsuda M, Sasanuma H, Ishiai M, Takata M, Ide H, Masunaga SI, Takeda S, Tano K. Selective cytotoxicity of the anti-diabetic drug, metformin, in glucose-deprived chicken DT40 cells. (2017) *PLoS One* 12 (9): e0185141.
7. Abo MA, Sasanuma H, 著者 4 名, Takeda S, Plunkett W, Pommier Y. (2017) TDP1 is critical for the repair of DNA breaks induced by sapacitabine, a nucleoside also targeting ATM- and BRCA-deficient tumors. *Mol Cancer Ther*. 16 (11): 2543-2551.
8. Sugimoto T, Ninagawa S, Yamano S, Ishikawa T, Okada T, Takeda S, Mori K. (2017) SEL1L-dependent Substrates Require Derlin2/3 and Herp1/2 for Endoplasmic Reticulum-associated Degradation. *Cell Struct Funct*. 42 (2): 81-94.
9. Liu Y, Wu X, 著者 3 名, Takeda S, Qing Y. (2017) Multiple repair pathways mediate cellular tolerance to resveratrol-induced DNA damage. *Toxicol In Vitro*. 42: 130-138.
10. 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  $\epsilon$  in cellular tolerance to cytarabine (Ara-C). *Oncotarget* 8 (20): 33457-33474.

研究題目	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		
研究代表者	氏名	所属	職名
	陳 豊史	京都大学大学院 呼吸器外科学講座	講師
研究協力者	高萩 亮宏	京都大学大学院 呼吸器外科学講座	大学院生
	合地 史明	京都大学大学院 呼吸器外科学講座	大学院生
所内連絡者	原田 浩	放射線生物研究センター	
研究概要	<p>臓器移植において、拒絶の有無を証明する手段は多数存在している。近年肝臓、すい臓、腎臓などの移植の分野では、レシピエントとドナー、Third party のリンパ球を混合し、CFSE で蛍光標識した後に培養、その分裂能の評価を FCM で行うことにより細胞性拒絶を評価する Mixed lymphoid reaction (以下、MLR) が臨床応用されている。肺移植の分野ではまだ確立されていない。今回、ラットの肺移植モデルを用いて、MLR の肺移植における有用性の確認を行い、当院から臨床応用を目指す。</p> <p>ラット肺移植後検体を用いたアロ反応の検出を目標として、現在は、非移植ラットを用いた研究を継続している。</p> <p>ラット肺移植モデルでは、LEW ラット(RT1<sup>l</sup>) と Brown Norway rat (RT1<sup>n</sup>) を MHC Major mismatched 組み合わせとして使用している。また、Fischer 344 (RT1<sup>fv</sup>) と LEW による Minor ミスマッチモデルも作成しているため、それらの組み合わせでリンパ球を混合した MLR を行っている。</p> <p>現在、それらの結果から、実験の内容、培養期間の Modify を行っている。</p>		
研究発表	<p>〈学会発表〉</p> <p>1. MEK 阻害剤 Trametinib はラット肺移植において遅発性拒絶を軽減する 高萩亮宏、陳豊史、齊藤正男、岡部亮、合地史明、山岸弘哉、栢分秀直、上田聡司、徳野純子、中島大輔、本山秀樹、濱路政嗣、毛受暁史、青山晃博、佐藤寿彦、園部誠、伊達洋至 要望演題 18 第 35 回日本呼吸器外科学会総会・学術集会 東京 2018. 5.18</p> <p>2.</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 Functional interaction of LINE-1 and DNA double strand breaks		
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	研究部部長・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レトロエレメントと同様に逆転写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も解析を行う。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。</p> <p>本年度の研究では外来性のレトロウィルスとして HIV-1 タンパクの DSB 部位との相互作用について解析を行った。過去の研究報告により他のウィルス種と同様に DSB 部位を標的として HIV DNA が挿入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、HIV-1 のアクセサリータンパクの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見出している。この結果を受けて、①<i>in vitro</i>、および <i>in vivo</i> において Mre11 と Vpr が相互作用すること、②<i>in vitro</i> の Mre11 のエキソヌクレアーゼ活性を Vpr が阻害すること、③非相同末端結合(NHEJ)のレポーター細胞系 (U2OS/pEJ) において Vpr が NHEJ 効率を抑制することを明らかにし、Vpr は Mre11 の介する DNA 損傷修復を抑制していることが強く示唆された。</p> <p>次に 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 は HIV の逆転写反応の抑制にすることで、ウィルス感染を抑制することが明らかとなった。Mre11 による逆転写反応の抑制機序を明らかにするために、Mre11 の各種変異体の発現細胞を作成し、逆転写反応に対する影響を解析した。その結果、Mre11 の DNA 結合ドメイン (A,B)、および Rad50 結合ドメインの双方が逆転写反応の抑制に機能することが分かった。また ChIP アッセイにおいて、Mre11 の HIV 逆転写産物への結合が観察されたことから、Mre11 が HIV 逆転写反応を直接的に阻害していることが示唆された。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 (論文投稿準備中)。</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。本研究の成果は <i>Retrovirology</i> に掲載された。</p>
<p>研究発表</p>	<p>〈論文発表〉  1. <u>Iijima K</u>, Kobayashi J, Ishizaka Y.  Structural alteration of DNA induced by viral protein R of HIV-1 triggers the DNA damage response. <i>Retrovirology</i>. 2018 Jan 16;15(1):8.</p>

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影響解析 Analysis of low doses of ionizing radiation on mitochondrial damage in radiosensitive cell lines		
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>放射線の晩発的効果と知られる放射線発がん影響については、広島・長崎原爆被ばく者集団の疫学調査から高線量の放射線では白血病、固形がんのリスクが被ばく線量とともに増加することが明らかである。しかし、100mSv以下の低線量放射線の発がんリスクは、統計学上では検出できないほどの小さなリスクで、疫学調査によって放射線による過剰なリスクがあるかどうかを判断することは困難である。</p> <p>我々はこれまでの研究から、放射線の標的として核DNAと同様にミトコンドリアの重要性を明らかにした。肺由来ヒト正常線維芽細胞(TIG-3, MRC-5)に31日間の長期分割照射(1回あたり0.01Gyまたは、0.05Gy)を行うと、細胞内の抗酸化物質グルタチオン量が低下し、ミトコンドリアから発生するROS量が増加する。過剰なROSは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。本研究では、低線量の放射線影響を高感度に検出するために、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ミトコンドリア損傷の解析を行った。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おいて重要であり、ATM欠損細胞は、低線量の放射線に高感受性を示すことを明らかにした。今後は、DNA損傷とミトコンドリア損傷が、放射線発がんにどのように関与するのかを解析する必要があると考える。</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. ATM-mediated mitochondrial damage response triggered by nuclear DNA damage in normal human lung fibroblasts. <i>Cell Cycle</i>. 2017, 16 (24):2345-2354</li> <li>2. Shimura T, Yamaguchi I, Terada H, Kunugita N. Lessons learned from radiation biology: Health effects of low levels of exposure to ionizing radiation on humans regarding the Fukushima accident. <i>Journal of the National Institute of Public Health</i> 2018, 67 (1): 115-122</li> <li>3. 志村勉、櫻田尚樹 ミトコンドリアの放射線応答と放射線発がんへの影響 放射線生物研究 2017;52:183-193.</li> </ol> <p>〈学会発表〉</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Shimura T and Kunugita N. Radiation-induced mitochondrial damage in neural progenitor stem cells and differentiated cells. The 8th Annual Meeting of the International Society of Radiation Neurobiology. 2018, 2. P.25</li> <li>2. 志村勉、笹谷めぐみ、河合秀彦、神谷研二、小林純也、小松賢志、櫻田尚樹 ATMが制御する核とミトコンドリアの放射線応答 第60回日本放射線影響学会;2017,10. P.91</li> </ol>		

研究題目	<p>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</p> <p>Comparative analysis of whole genome CNV/Indel and replication fork abnormality induced by oncogen overexpression and ionizing radiation</p>		
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	有吉 健太郎	弘前大学、被ばく医療総合研究所、放射線生物学部門	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>放射線や抗がん剤処理によって二次発がんが生じることが分かっている。また、がん遺伝子の過剰発現によってがんが引き起越されることが知られているが、これらの共通の発がんメカニズムなど詳細は分かっていない。本研究では、がんを引き起す外的ストレスを与えた状態で、細胞内でどのような変化が生じるのかについて、DNA 修復タンパクの挙動や全ゲノム CGH 解析などを用いて包括的に比較解析する事によって、放射線とがん遺伝子過剰発現によるゲノム不安定性を誘導する共通点と相違点を探り、発がんメカニズムの理解を深める事を目的とする。</p> <p>本年度は、放射線や抗がん剤シスプラチン処理後に、がん細胞で特異的に生じる DNA 修復経路選択機序を集中的に解析した。Cas9/CRISPR 技術で樹立した RecQL4 欠損 HCT116 大腸がん細胞株などを用いて実験を行った結果、幾つかの誤りがち修復経路の関与が明らかになった。興味深いことに、RECQL4 欠損がん細胞特異的に特定の誤りがち修復経路の亢進がみられた。現在、がん細胞特異的な表現型の普遍性の検証と、特定の誤りがち修復経路阻害剤の特異性を中心に、リバイス実験を遂行中である。</p>		
研究発表	<p>〈論文発表〉</p> <p>A Survey about the Radiation Effects and A Health Survey of Fukushima Inhabitants after the Fukushima Daiichi Nuclear Power Plant Accident. Okazaki R, Ohga K, Yoko-O M, Kohzaki M. J UOEH. 2017;39(4):277-290. doi: 10.7888/juoeh.39.277.</p> <p>〈学会発表〉</p> <p>Is there Onset Threshold of Lymphomas Induced by Low-Dose of Ionizing Radiation? The 2nd International Symposium of the Network-type Joint Usage/Research Center for Radiation Disaster Medical Science, Nagasaki, 3-4 Feb, 2018.</p>		

研究題目	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		
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>           遺伝情報を担う染色体を次世代に正確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、染色体の均等分配に必須な領域で、CENP-A を含むヌクレオソームの存在がセントロメアを決定しています。そこで、本申請研究は酵母細胞を用いて 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、染色体を継承していくシステムを理解することを目的とします。さらに、工業的に有用な酵母についてもセントロメアの解析を行い、分子遺伝学の基礎を構築することを目的とします。         </p> <p>           分裂酵母のセントロメア形成には、ヘテロクロマチン領域が重要であると考えられています。これまでの研究で得られた新規因子が、ヘテロクロマチン形成に影響を与えている結果を得ました。そこで、ヘテロクロマチンと新規因子の関連を調べるために、サイレンシング解析を行いました。新規因子破壊株では、ヘテロクロマチン内に挿入した遺伝子発現が強力に抑制されることがわかりました。現在、さらにヘテロクロマチン関連因子との遺伝学的関係について解析しています。         </p> <p>           油脂生産酵母の遺伝解析を行うため、胞子分離可能であることを昨年度までに報告しました。本年度は、さらに分離胞子の遺伝型解析のために、薬剤耐性遺伝子導入酵母と野生型酵母を接合させて胞子分離を行いました。その結果、薬剤耐性と感受性細胞の割合が、子囊内で1：1になることがわかりました。今後は、遺伝子導入プラスミドの作成を進めていきます。         </p>		
研究発表	<p>〈学会発表〉</p> <p>1. 第 50 回酵母遺伝学フォーラム 2017 年 9 月 11 日～9 月 13 日</p> <p>油脂生産酵母の分子遺伝学解析の試み</p> <p>高山優子・三好奈美子</p>		



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 Analysis of dose-rate dependency and the mechanism of the induction of radioadaptive response		
研究代表者	氏名	所属	職名
	立花 章	茨城大学・理学部	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>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 PKC<math>\alpha</math>及び p38 MAPK<math>\alpha</math>が関与することを我々は明らかにしてきたが、これらの間の相互作用については不明な点が多い。本研究では、PKC<math>\alpha</math>の活性化に関与すると考えられる PLC<math>\delta</math>が放射線適応応答誘導に関与するかについて検討した。</p> <p>PLC<math>\delta</math>には3種類のアイソフォームが知られている。このうち、PLC<math>\delta</math>1をノックダウンしたところ、放射線適応応答が誘導されたため、PLC<math>\delta</math>1は放射線適応応答誘導に関与しないものと考えられた。しかし、PLC<math>\delta</math>1に加えて、別のアイソフォームである PLC<math>\delta</math>3の両者をノックダウンした細胞について検討したところ、適応応答の誘導が抑制される結果が得られた。これらのことから、PLC<math>\delta</math>1と<math>\delta</math>3は相互補完的に働いており、両者の活性が低下したことにより放射線適応応答が抑制されたものと考えられた。従って、PLC<math>\delta</math>活性が放射線適応応答に関与していることが示唆された。</p>		
研究発表	<p>〈論文発表〉〈学会発表〉</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Tissue-specific and time-dependent clonal expansion of ENU-induced mutant cells in <i>gpt</i> delta mice. Nakayama, T., Sawai, T., Masuda, I., Kaneko, S., Yamauchi, K., Blyth, B.J., Shimada, Y., Tachibana, A., Kakinuma, S. <i>Environmental and Molecular Mutagenesis</i>, <b>58</b> (8), 592–606, (2017)</li> </ol> <p>〈学会発表〉</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 立花 章、長森夏海、高橋侑子、祢津安明、小林純也、中村麻子、秋山張 秋梅：放射線適応応答誘導シグナルとしての酸化ストレスの関与の検討、2017年度生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017)、平成 29 年 12 月 6 日–9 日、神戸市</li> <li>2. 高橋知花、松本健吾、立花章：放射線適応応答誘導への EGFR の関与、日本放射線影響学会第 59 回大会、日本放射線影響学会第 60 回大会、平成 29 年 10 月 25 日–28 日、千葉市</li> <li>3. 杉本理峻、小林涼香、服部佑哉、渡辺立子、立花 章、横谷明德：Ca<sup>2+</sup>オシレーションを含む細胞内ネットワークシステムの変化をパラメータとした放射線適応応答誘導経路のモデル化に向けた取り組み、日本放射線影響学会第 60 回大会、平成 29 年 10 月 25 日–28 日、千葉市</li> </ol>		

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 Revealing regulatory mechanism of DNA double-strand breaks repair mediated by nuclear architectures		
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	高田 穰	放射線生物研究センター	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した。</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。この nuclear speckle への局在に重要であると考えられるドメインには low complexity domain (LC domain) と想定される領域が含まれており、nuclear speckle への局在は liquid droplets による境界面形成を介している可能性が示唆された。今後より詳細にこのドメインの DSB 修復における役割を検討する予定である。</p>		
研究発表	<p>〈論文発表〉〈学会発表〉</p> <p>1. 西 良太郎、核内構造体による DNA 二本鎖切断応答制御機構の解明、第 40 回日本分子生物学会年会（2017 年度生命科学系学会合同年次大会）</p>		

研究題目	<p>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</p>		
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
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>X 線・<math>\gamma</math> 線を高線量率で照射した細胞の 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) が回復するとともに細胞増殖が起こり、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)。本研究は、低線量率<math>\gamma</math>線照射下における DSB 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>これまでの研究から、低線量連続照射下において、NHEJ に関与する <i>KU70</i> を欠損したニワトリ DT40 細胞は、HR に関与する <i>RAD54</i> 欠損細胞だけでなく、<i>RAD54</i> と <i>KU70</i> の 2 重欠損細胞よりも、コロニー形成能・増殖能が共に低下することを見出していた。しかしながら、これらの結果が細胞死の誘導によるのか、あるいは細胞老化などによる増殖停止に起因するのか未解明であった。そこで、照射直後の生細胞率を測定した。</p> <p>放射線生物研究センターの低線量長期放射線照射装置において、DT40 細胞 (Wild)、および DT40 細胞由来の <i>KU70</i><sup>-/-</sup>、<i>RAD54</i><sup>-/-</sup>、<i>RAD54</i><sup>-/-</sup><i>KU70</i><sup>-/-</sup>細胞に、0.1 Gy/h の<math>\gamma</math>線を 48 時間 (積算線量 約 5 Gy) 照射した。細胞を LIVE/DEAD Fixable Dead Cell Stains (Thermo Fisher Scientific) で染色後に固定し、当所のフローサイトメーター (CytoFLEX、ベクマン・コールター) を用いて生細胞率を測定した。その結果、生細胞率は <i>KU70</i><sup>-/-</sup>細胞が最も低く、<i>RAD54</i><sup>-/-</sup><i>KU70</i><sup>-/-</sup>細胞は、<i>KU70</i><sup>-/-</sup>細胞と <i>RAD54</i><sup>-/-</sup>細胞の間の値を示した (図 1)。よって、本実験により、コロニー形成法等での結果を裏付ける傾向が認められ、照射中に細胞増殖が遅延しているだけではなく、細胞死が速やかに誘導されていることが確認された。</p> <p>次年度以降、引き続き再現性を確認するとともに、DSB の蓄積性なども検証して成果を取りまとめていく予定である。</p>		
研究発表	<p>〈学会発表〉</p> <p>1. 富田 雅典「低線量放射線照射下での幹細胞維持における DNA2 本鎖切断修復機構の重要性」第 6 回低線量放射線影響研究交流会 (2017 年 9 月、青森)</p>		

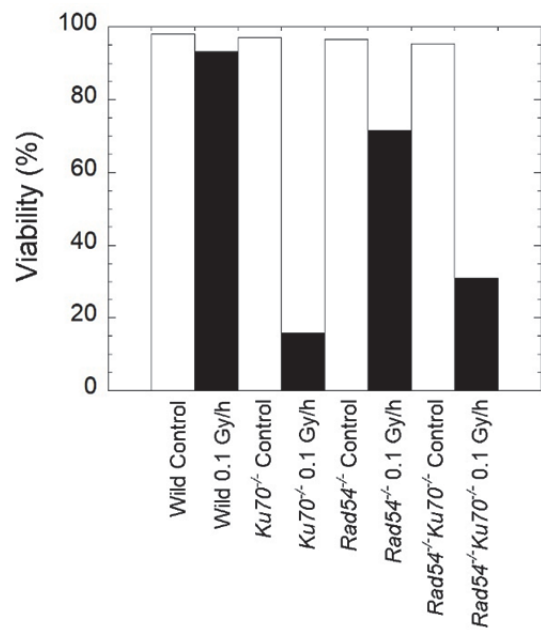


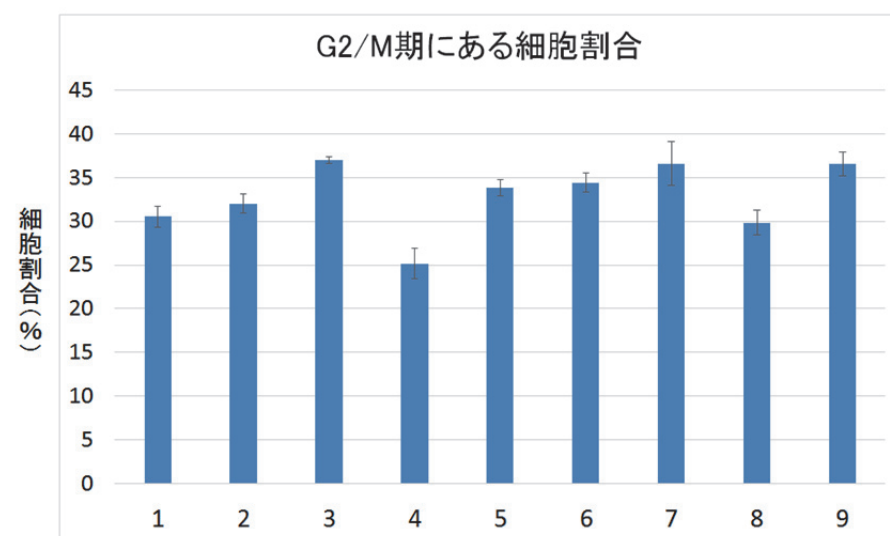
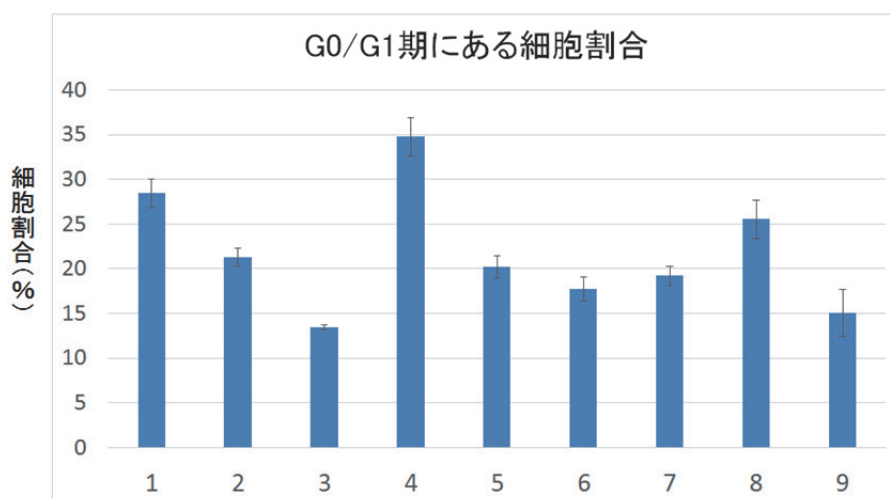
図 1 低線量率連続照射による生細胞率の変化

研究題目	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		
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	小松賢志	放射線生物研究センター	特任教授
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>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修復再結合される。これらの修復において ATM は重要な役割を果たしている。毛細血管拡張性運動失調症の患者の細胞は HR 系を阻害した細胞と同じ放射線感受性を示すことから、ATM は HR に必須であると考えられる。一方、ATM は 53BP1 をリン酸化して RIF1 をリクルートし、これにより HR を阻害する役割が報告されている。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 が欠損したマウス細胞 (STEF 細胞) を解析に用いた。ATM 阻害剤の KU55933 の存在下及び非存在下で培養した STEF 細胞に 4Gy の <math>\gamma</math> 線を照射し、その後培養を行って RIF1、Rad51 の核内フォーカス数の変動を調べた。その結果、4Gy の照射では RIF1、Rad51 の核内フォーカス数は照射後増加し、3 時間で最大値を示した。一方、ATM 阻害剤の存在下ではいずれの核内フォーカスもほとんど検出されなかった。ATM 阻害剤の存在下で RIF フォーカスが形成されないことから HR に必須の end resection は進行していると思われる。このような状況でも、Rad51 フォーカスが形成されないことから end resection の下流でも ATM が機能していると思われる。このように ATM には RIF1 を介して HR を阻害するネガティブな役割と、RAD51 フォーカス形成を促進するポジティブな役割が示唆される。</p>		
研究発表	<p>〈論文発表〉〈学会発表〉</p> <p>1. 相同組換えにおける ATM のポジティブとネガティブな役割 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 60 回大会 平成 29 年 10 月 25 日～28 日 千葉</p>		

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 Analysis of suppression mechanism of serum removal-induced cell death by irradiation		
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】申請者は、既に 1 Gy の X 線照射が血清除去誘導の細胞死に対し抑制的に作用することを PC12 細胞において見出している。また、このとき細胞周期の進行マーカーである cyclin A の発現抑制と PC12 細胞の分化過程において活性化される p38 MAPK のリン酸化亢進が観察されている。以上のことは、X 線照射により増殖シグナルの抑制と分化シグナルの亢進が引き起こされる結果、細胞死が抑制されたことを示唆している。本研究では、さらにこの現象を詳細に解析するために、細胞周期の各期にいる細胞およびアポトーシスに陥っている細胞の割合について調査した。</p> <p>【方法】血清含有培地中で PC12 細胞をシャーレに生着させた後、無血清培地に交換し、培養を継続した。続いて、その直後、24 時間後または 48 時間後に 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、MUSE assay kit を用いて、上記の細胞割合を観察した。</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、G0/G1 期にある細胞の割合減少と G2/M 期にある細胞の割合増加が観察された。この対照群に対して、細胞死の抑制効果が見られた血清除去後 24 時間後の 1 Gy の X 線照射は、これら二つの変化を抑制した。一方、細胞死の抑制効果</p>		



が見られなかった血清除去直後および48時間後のX線照射では、対照群との違いはほとんどなかった。他方、S期にある細胞の割合は、いずれの細胞においてもほとんど差は見られなかった。次にアポトーシスに陥っている細胞の割合を観察したところ、対照群では、細胞死に至った細胞数は増加しているものの、アポトーシスに陥っている細胞の割合は増えてはなかった。これに対して、血清除去後24時間後のX線照射では、細胞死に至った細胞数は減少しているものの、アポトーシスに陥っている細胞の割合は増加していた。



【考察】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、細胞の生存維持シグナルを増強する結果、細胞のG2/M期への移行を抑制したと考えられる。また、この細胞増殖シグナルの抑制は、増殖に伴うエネルギー的負荷を軽減する結果、栄養欠乏による細胞死を、細胞機能の制御を失うことで起こるネクロシスではなくアポトーシスによって進行させたと考えられる。

研究発表

〈学会発表〉

加藤 真介、小林 純也、梅田 知伸、小林 芳子、鈴木 崇彦

“血清除去誘導細胞死の一過性X線照射による抑制“

日本放射線影響学会第61回大会（長崎）2018年11月（予定）

研究題目	ヒト樹状細胞の機能解析 Analysis of human dendritic cell functions		
研究代表者	氏名	所属	職名
	北脇 年雄	京都大学医学部附属病院 血液・腫瘍内科	助教
研究協力者	山本 和代	同上	研修員
	川瀬 有美	同上	研修員
	有馬 浩史	同上	医員
	山崎 寛章	同上	研修員
	大塚 泰幸	同上	大学院生
	福永 桂子	同上	技術補佐員
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>多発性骨髄腫の新規治療薬である免疫調節薬レナリドミドは、骨髄腫細胞の直接的な増殖抑制だけでなく、抗腫瘍免疫の賦活化によっても治療効果を発揮すると言われていている。T細胞、NK細胞については、レナリドミドがこれらの細胞の機能を増強することが示されている。しかし、レナリドミドのヒト樹状細胞 (dendritic cell: DC) に対する効果は明らかになっていない。我々は、ヒト末梢血中に存在する3つのDCサブセット (CD1c陽性骨髄系DC、CD141陽性骨髄系DC、形質細胞様DC) に対するレナリドミドの効果を各サブセットごとに検討した。</p> <p>各DCサブセットをセルソーターで分取し、レナリドミドの存在下または非存在下でToll-like receptorリガンドで刺激したところ、レナリドミドは、CD1c陽性DCの、CD80、CD86などの共刺激分子の発現上昇には影響しなかったが、TNF-<math>\alpha</math>、IL-12、IL-23など炎症性サイトカインの産生を抑制し、抑制性サイトカインであるIL-10の産生を増強した。これらの効果に相応して、レナリドミドはCD1c陽性DCによるナイーブCD4陽性T細胞のTh1細胞およびTh17細胞への分化を抑制した。レナリドミドは、CD141陽性DCのIFN-<math>\alpha</math>産生を抑制したが、形質細胞様DCのIFN-<math>\alpha</math>産生は抑制しなかった。</p> <p>Th17細胞は炎症を促進することによってIL-6などのサイトカインによる骨髄腫細胞の増殖を促進する。DCに対するレナリドミドの作用は、Th17細胞への分化を抑制することによって多発性骨髄腫に対するレナリドミドの治療効果に貢献していることが示唆された。</p>		
研究発表	<p>〈論文発表〉</p> <p>1. 上記の結果について現在論文投稿中である</p>		

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 Antigen presenting cells controlling immune response		
研究代表者	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>樹状細胞 (DC)およびマクロファージ (Mφ) は様々なレセプターを介して抗原を認識し取り込み、抗原提示とその後の獲得免疫の起動、および病原体の直接的な排除を行う。一方で、多くの病原体は DC および Mφ の働きを抑える機構を有しており、それらを介して宿主への感染を拡大する。29 年度は <i>Candida albicans</i> の免疫抑制機構を担う分子の同定を行った。</p> <p><i>C. albicans</i> は免疫応答の低下した高齢者や AIDS 患者に感染する日和見感染菌である。先に、<i>C. albicans</i> 感染患者の血液中に、マウスの免疫応答を抑制する因子が存在する事が報告されていた。そこで、<i>C. albicans</i> 菌体より Fehling 法にて調製した N 型糖鎖を炎症を誘導する大腸菌リポ多糖と共にマウスに投与したところ、血液中の TNF-α など炎症を惹起するサイトカインの産生が低下し、炎症を抑えるサイトカイン IL-10 の産生が昂進した。また、リポ多糖を致死的な敗血症レベルまで上げたところ、糖鎖の投与によりマウスの死亡率が改善した。マウスに clodronate/liposome を投与し、食食系の細胞を除去すると、糖鎖による IL-10 産生は低下した。さらに、生体より調製した Mφ を <i>in vitro</i> で <i>C. albicans</i> N 型糖鎖およびリポ多糖で刺激したところ、顕著な IL-10 産生を認めた。</p> <p>以上の結果より、日和見感染菌 <i>C. albicans</i> N 型糖鎖は、Mφ に作用し免疫抑制性サイトカイン IL-10 の産生を誘導し免疫応答を抑制している可能性が示唆された。</p>		
研究発表	<p>〈論文発表〉〈学会発表〉 無し。</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 Development of drug deliverly system for targeting circulating microRNA		
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>anti-Exo 抗体に anti-miR 核酸を結合させた抗体結合型核酸 (ExomiR-Tracker) を設計した。Traut's Reagent と Cys(Npys)-(D-Arg)9 を用いてアルギニン化抗体を作製し、anti-miRNA 核酸と複合体形成させることで ExomiR-Tracker を得た。ExomiR-Tracker はエクソソームを介して細胞内に導入され、細胞質に局在することが確認された。さらに、ExomiR-Tracker は口腔上皮がん細胞において標的 miRNA の機能を特異的に阻害することが可能であることが見出された。近年、エクソソームを回収した後、様々な分子を内包させることで DDS として利用する研究が盛んに行われているが、我々の開発した手法はエクソソームを単離・精製する必要がなく、体内に直接投与できるという点において一線を画すものであり、今後、実用化研究に着手する予定である。</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>, <i>Chem. Lett.</i>, 46, 1265-1268 (2017).</li> <li>4. Ariyoshi J., Matsuyama Y., Kobori A., Murakami A., Sugiyama H., <u>Yamayoshi A.*</u>, Effective anti-miRNA oligonucleotides show high releasing rate of microRNA from RNA-induced silencing complex (RISC), <i>Nucleic Acid Therapeutics</i>, 27(5) 303-308 (2017).</li> </ol>		

- |  |   |
|--|---|
|  | <ol style="list-style-type: none"><li>5. Sugai H., Nakase I., Sakamoto S., Nishio A., Inagaki M., Nishijima M., <u>Yamayoshi A.</u>, Araki Y., Ishibashi S., Yokota T., Inoue Y., Wada T., Peptide Ribonucleic Acid (PRNA)Arginine Hybrids. Effects of Arginine Residues Alternatingly Introduced to PRNA Backbone on Aggregation, Cellular Uptake, and Cytotoxicity, <i>Chem. Lett.</i>, 47, (3), 381-384 (2018).</li><li>6. <u>Yamayoshi A.*</u>, Kobori A., Murakami A., Photo-dynamic antisense regulation by photo-cross-linkable antisense oligonucleotides, <i>Phoregulation of DNA/RNA functions</i>, Asanuma et al, eds, Pan Stanford Publishing Pte. Ltd., in press.</li><li>7. <u>Yamayoshi A.*</u> (招待講演) : Development of novel antibody-oligonucleotide conjugates for targeting exosomal microRNA, 1st Minisymposium on Material Biology, October 17, 2017.</li><li>8. 山吉麻子(招待講演) : 遺伝子発現のエピジェネティック制御機構の支配を目指した機能性核酸の創製、第98回日本化学会春季年会・特別企画 女性科学者が拓く生命化学、2018年3月20日</li></ol> |
|--|---|



研究題目	DNA 二本鎖切断修復におけるアルデヒド分解酵素の役割 Roles for the fatty aldehyde dehydrogenase in DNA double in strand break response and repair		
研究代表者	氏名	所属	職名
	酒井 恒	神戸大学バイオシグナル 総合研究センター	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	
研究概要	<p>申請者は、DNA 架橋損傷応答に機能する FA 経路において重要な因子である FANCD2 と、生体内の代謝過程で生じる脂肪族アルデヒドを分解する酵素が、安定な複合体を形成することを見出した。しかし、この酵素の DNA 損傷応答における機能は全く不明であるため、本研究では DNA 二本鎖切断 (DSB) による影響を解析することにより、その基礎的な分子機能の解明を行うことを目的とする。申請者はこれまで、脂肪族アルデヒド分解酵素を発現抑制すると細胞内に DNA 損傷のマーカーとされる <math>\gamma</math>H2AX の蓄積が誘導されること、および FANCD2 の機能異常によって脂質代謝異常が引き起こされることを明らかにしている。さらに、脂肪族アルデヒド分解酵素を高発現させた細胞は、マイトマイシン C (MMC) 処理に対してより抵抗性を示すことも見出している。しかし、脂肪族アルデヒドの代謝が DNA 損傷修復にどのように関与するかは依然として不明な点が多い。今後、DSB 損傷応答における影響が明らかとなれば、脂肪族アルデヒドと DNA 損傷応答における分子機能の理解に加え、脂質代謝制御と DNA 損傷応答に関する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> <ol style="list-style-type: none"> <li>29th Fanconi Anemia Research Fund Scientific Symposium, Fatty aldehyde dehydrogenase as a novel binding partner of FANCD2, Atlanta, 2017 年 9 月 16 日</li> <li>日本環境変異原学会第 46 回大会 (東京) 脂質アルデヒド代謝におけるファンコニ貧血タンパク質の機能解析, 2017 年 11 月 6 日</li> </ol>		

研究題目	DNA 損傷トレランスにおけるユビキチン化システムの役割 Roles of ubiquitination systems in DNA damage tolerance		
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のK164のユビキチン化に依存した経路が発動する。具体的には、PCNAのK164の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、PCNAホモ3量体の複数のサブユニットのK164が同時に修飾される、すなわち、マルチモノユビキチン化されること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、それらの遺伝子破壊細胞株などを用いて、詳細な解析を行っている。</p>		
研究発表	<p>〈論文発表〉</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Kanao R, *Masutani C. Regulation of DNA damage tolerance in mammalian cells by posttranslational modifications of PCNA. <i>Mutat Res Fund Mol Mech Mutagen</i>, 2017; 803-805: 82-88. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2017.06.004.</li> </ol> <p>〈学会発表〉</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 益谷央豪、金尾梨絵、松尾(楠本)理加、増田雄司. ゲノムの安定化と不安定化をもたらす損傷乗り越えDNA複製の制御機構の解析. ワークショップ「加齢関連疾患の発生と治療に関わるDNA損傷と細胞老化」. ConBio2017/第40回日本分子生物学会年会、神戸</li> <li>2. 益谷央豪、金尾梨絵、松尾(楠本)理加、増田雄司. 損傷乗り越えDNA複製の制御機構の解析. シンポジウム「DNA損傷(応答)研究最前線—創薬・治療戦略の可能性を探る—」. 日本薬学会第138年会、2018年3月25-28日、金沢</li> </ol>		

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 Molecular Mechanisms of DNA Double-Strand Break Repair Through Non-Homologous End Joining		
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 環境・社会理工学院 融合理工学系 原子核工学	大学院生(博士)
	加瀬 直也	東工大 環境・社会理工学院 融合理工学系 原子核工学	大学院生(修士)
	塚田 海馬	東工大 環境・社会理工学院 融合理工学系 原子核工学	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 複合体 (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>本年度は、平成 28 年度に引き続き、Ku70 欠損マウス胎仔線維芽細胞および DNA-PKcs を欠損する scid マウス胎仔線維芽細胞を用いた検討を行った。低線量率(1.0-1.1 Gy/min)と高線量率(0.9 Gy/min)で照射を行った後、生存率をコロニー形成法によって検討した。その結果、Ku70 欠損細胞は高線量率照射より低線量率照射に高い感受性を示したが、DNA-PKcs 欠損細胞は低線量率照射より高線量率照射に高い感受性を示した。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、および DNA 修復機能正常のヒト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 30 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> <p>1.○Yoshihisa Matsumoto, Hisayo Tsuchiya, Mikio Shimada, Junya Kobayashi. Behavior of DNA double-strand break repair-deficient cells under low dose rate irradiation. (松本 義久, 土屋 尚代, 島田 幹男, 小林 純也. 低線量率放射線照射下での DNA 二重鎖切断修復欠損細胞の挙動の解析.) 第 76 回日本癌学会学術総会, 平成 29 年 9 月 28~30 日. パシフィコ横浜(横浜), P-2009.</p> <p>2. ○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応答の解析. 日本放射線影響学会第 60 回大会, 平成 29 年 10 月 25~28 日, 京葉銀行文化プラザ(千葉), P-120.</p> <p>3. ○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の解析. 日本放射線腫瘍学会第 56 回生物部会学術大会, 平成 30 年 7 月 13 日, 国立がん研究センター中央病院(東京), 要望演題: DNA 損傷 4).</p>		

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 Analysis of the mechanism of the maintenance of genome integrity in human pluripotent stem cells		
研究代表者	氏名	所属	職名
	黒沢 綾	群馬大学 大学院理工学府	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 29 年度も、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。hNSC に<math>\gamma</math>線を 1 Gy または 2 Gy 照射し、4 日後の生存率を調べたところ、線量依存的な生存率の低下が観察された。実験に用いている hNSC の倍加時間は 60 時間程度であることから、DNA 損傷誘発後の細胞周期の変化を調べた。hNSC を放射線類似作用薬ネオカルチノスタチンで処理し、24 時間後と 48 時間後の DNA ヒストグラムパターンを解析した。ネオカルチノスタチン処理後 24 時間の hNSC では G<sub>2</sub>/M 期への集積が顕著に観察されたが、処理後 48 時間の hNSC では細胞周期の各期の割合は、subG1 期の割合が増えたことを除き、無処理細胞と同程度であった。したがって、hNSC は DNA 損傷誘発後、DNA 損傷に応答し、少なくとも 48 時間までには生存の可否を判断していると推察される。</p> <p>次に、DNA 損傷による hNSC の神経細胞への分化への影響について解析を行った。hNSC をネオカルチノスタチン等の DNA 損傷誘発剤を含む培地で 24 時間培養し、培地交換をしたのち、一週間培養を続け、神経細胞へと分化誘導を行った。その結果、薬剤処理を行った細胞も、神経細胞のマーカーである<math>\beta</math>III チューブリン陽性となることがわかった。今後、DNA 損傷誘発から分化誘導までの時間と分化誘導効率との相関性があるかを解析予定である。現在用いている分化誘導系では、培養ディッシュに接着させた細胞が剥離しやすく、誘導効率の定量的に不向きであるため、分化誘導系についても検討を行なう予定である。</p>		

研究題目	植物の DNA 損傷応答の解析 Research for DNA damage response in plants		
研究代表者	氏名	所属	職名
	梅田正明	奈良先端科学技術大学院大学	教授
研究協力者	高橋直紀	奈良先端科学技術大学院大学	助教
	荻田伸夫	奈良先端科学技術大学院大学	D3
	沢邊翔吾	奈良先端科学技術大学院大学	D2
	吉國早希	奈良先端科学技術大学院大学	M2
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>DNA に損傷を受けると、センサーキナーゼである ATAXIA TELAGIECTASIA MUTATED (ATM) と ATAXIA TELANGIECTASIA AND RAD3-RELATED PROTEIN (ATR) が損傷 DNA を感知する。植物では、ATM と ATR が植物特異的な NAC 型転写因子である SUPPRESSOR OF GAMMA RESPONSE1 (SOG1) をリン酸化することで活性化し、細胞周期の停止や DNA 修復、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、動物とは異なり、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>現在までに、我々は SOG1 により直接転写制御される 146 個の遺伝子を同定している (Ogita <i>et al.</i>, 2018)。そして、最近の我々の研究により、SOG1 の標的遺伝子の中の ANAC044 と ANAC085 (以下、ANAC44/85) が、DNA 損傷に応答した細胞周期の停止に重要な役割を果たしていることを明らかにした。ANAC44/85 は、SOG1 と高い相同性を示す。そこで、ANAC44/85 の DNA 損傷応答における役割を調べたところ、ANAC44/85 の機能欠損変異体は、<i>sog1</i> 機能欠損変異体と同様に、野生型植物に比べて DNA 損傷に対して耐性を示すことが明らかになった。さらに、ANAC44/85 が G2/M 期遺伝子の転写抑制に関わっていることが示された。一方で、ANAC44/85 は、SOG1 とは異なり、DNA 修復には関与しないことが明らかとなった。以前までに我々は、DNA 損傷に応答した細胞周期の停止に、抑制型 MYB3R 転写因子 (Rep-MYB) の安定化による G2/M 期遺伝子の発現抑制が必須であることを明らかにしている (Chen <i>et al.</i>, 2017)。そこで、Rep-MYB タンパク質の安定化における ANAC44/85 の関与を調べたところ、ANAC44/85 が DNA 損傷に応答した Rep-MYB タンパク質の蓄積に必要であることが示された。以上の結果から、DNA 損傷が起きると ANAC44/85 が発現誘導され、Rep-MYB タンパク質が蓄積することで G2/M 期遺伝子の発現が抑制され、細胞周期が G2 期で停止することが示唆された。また、DNA 損傷だけではなく、熱ストレスによる細胞周期の停止でも同様に ANAC44/85-Rep-MYB 経路が関与していることから、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モジュールであると考えられる。</p>		
研究発表	<p>〈論文発表〉</p> <p>1. Naoki Takahashi, Nobuo Ogita, Tomonobu Takahashi, Shoji Taniguchi, Maho Tanaka, Motoaki Seki, Masaaki Umeda. ANAC044 and ANAC085, NAC-type transcription factors, govern a core module controlling stress-induced cell cycle arrest in <i>Arabidopsis thaliana</i>. in preparation</p> <p>〈学会発表〉</p> <p>2. Naoki Takahashi, Nobuo Ogita, Masaaki Umeda. ANAC044 and ANAC085 are crucial for cell cycle arrest under DNA damage. 第 59 回日本植物学会年会 札幌 2018 年 3 月</p> <p>3. Naoki Takahashi, Nobuo Ogita, Masaaki Umeda. DNA damage activates two distinct signaling pathways controlling DNA repair and cell cycle arrest. Plant Genome Stability and Change 2018, Gatersleben, Germany 2018 年 6 月</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 Analysis of multiple cellular responses during radiation-induced tumorigenesis														
研究代表者	氏名	所属	職名												
	中村 麻子	茨城大学	教授												
研究協力者	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; 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; 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 二本鎖切断マーカーである <math>\gamma</math>-H2AX に対する免疫染色を行い、低線量率放射線照射後の DNA 損傷修復応答における細胞老化の影響について検討した。また、DNA 損傷の再結合を評価するために、低線量率放射線照射 (1.25Gy/day を 2.5Gy 照射) 後の細胞を用いて中性コメットアッセイを行った。その結果、照射直後の <math>\gamma</math>-H2AX レベルおよびコメットテー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 (図)。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。次に、老化依存的な DNA 損傷修復能の低下が老化特異的クロマチン構造変化によるものであるかを検討するため、ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤である SAHA 処理を行い同様の実験を行った。その結果、薬剤の有無による g-H2AX レベルおよびコメットテールへの影響は認められなかった。この結果は、本実験条件による SAHA 処理によるクロマチン構造変化は、老化細胞における DNA 損傷修復機能低下に影響を与えないことを示しており、より詳細な機能低下の原因解明が求められる。</p> <table border="1"> <caption>Figure Data: <math>\gamma</math>-H2AX foci / cell</caption> <thead> <tr> <th>time after exposure (1Gy/day)</th> <th>EPDL</th> <th>LPDL</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0 Gy</td> <td>~2.5</td> <td>~5.5</td> </tr> <tr> <td>0 hr</td> <td>~5.5</td> <td>~8.5</td> </tr> <tr> <td>1 hr</td> <td>~5.0</td> <td>~10.0</td> </tr> </tbody> </table>			time after exposure (1Gy/day)	EPDL	LPDL	0 Gy	~2.5	~5.5	0 hr	~5.5	~8.5	1 hr	~5.0	~10.0
time after exposure (1Gy/day)	EPDL	LPDL													
0 Gy	~2.5	~5.5													
0 hr	~5.5	~8.5													
1 hr	~5.0	~10.0													
研究発表	<p>&lt;学会発表&gt;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Oizumi T and Nakamura AJ. Analysis for mechanism of age-associated decline in DNA damage repair capacity. 2nd International Symposium of Quantum Beam Science at Ibaraki University, Dec 8-10, 2017, Ibaraki, Japan.</li> <li>大泉昂之、丸山里奈、中村麻子, 老化に伴う DNA 損傷修復能力低下の原因解明, 日本放射線影響学会第 60 回大会, Oct 26-28, 2017, 千葉</li> <li>Oizumi T and Nakamura AJ. Analysis for mechanism of age-associated decline in DNA damage repair capacity. 63rd Annual international meeting Radiation Research Society, Oct 15 - 18, 2017, Cancun, Mexico.</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 Maintenance of the genome integrity by the proteasome and its related factors		
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	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>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 あるいはプロテアソーム自体を制御する可能性がある、分裂酵母のセリン/スレオニンキナーゼ Cek1 および Ppk18 (高等動物の Greatwall kinase に相当する。以下、Gwlk と表記) の活性を、主たる基質である <math>\alpha</math>-Endosulfine ホモログ Mug134 のリン酸化アップバンドを指標に簡便に評価する方法を導入した。この実験系を、様々な栄養素の有無、Gwlk の過剰発現など、Cut8 機能欠損の示す表現型に影響を与える条件において活用し、グルコースやリン酸濃度の低下のような <i>cut8</i> 高温感受性変異が部分的に抑制される条件において、Gwlk が活性化することが明らかとなった。Gwlk の上流には、栄養に関するマスターレギュレーターとも言える TOR キナーゼがあることが報告されている。培地の栄養条件の変化が TOR を介して Gwlk の活性変化を引き起こし、最終的に Cut8 あるいはプロテアソーム周辺に情報が入力されることで、ユビキチン依存的タンパク質分解の制御が行われているのであれば、これらの因子は酵母からヒトまで高度に保存されているため、その制御経路自体も保存されている可能性は高く、興味深い。さらに、細胞周期、姉妹染色文體分離の制御のみならず、プロテアソーム系が関わるゲノム維持機構に、これらの栄養情報伝達系が関与する可能性も考えられる。</p>		
研究発表	<p>〈学会発表〉</p> <p>1. 武田鋼二郎 甲南大学 統合ニューロバイオロジー研究所 第5回公開シンポジウム (2018.3.21)</p>		

研究題目	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		
研究代表者	氏名	所属	職名
	秋山 秋梅	京都大学大学院理学研究科	准教授
研究協力者	松井亜子	京都大学大学院理学研究科	研修員
	吉川 幸宏	京都大学大学院理学研究科	大学院生
	周 慧	京都大学大学院理学研究科	大学院生
	山崎 晃	京都大学大学院理学研究科	大学院生
所内連絡者	小林 純也	京都大学大学院生命科学研究科放射線生物研究センター	准教授
研究概要	<p><b>1) OXR1 の放射線に対する細胞応答システムにおける役割の解明</b></p> <p>背景: 酸化ストレス応答遺伝子 Oxidation resistance 1(OXR1)は筋萎縮性側索硬化症や老化への関与が報告され、細胞・個体の正常な機能を維持するための必須の遺伝子であることが示されてきた。現在、OXR1 の機能解明が神経変性疾患発症メカニズムや細胞の様々なストレス応答に対する研究に応用されつつある。</p> <p>目的: 本研究は OXR1 の放射線に対する細胞応答システムにおける役割の解明を目的としてきた。</p> <p>結果: 本研究において、OXR1 ノックダウン HeLa 細胞株ではコントロール細胞株と比較し 10 Gy ガンマ線照射後の superoxide レベルが高く、ROS 依存的な微小核形成が増加した。また、ROS 非依存的な細胞周期異常がみられ、この異常も微小核形成増加の原因となっていた。OXR1 ノックダウンにより細胞周期制御因子のリン酸化状態または発現量に影響が見られ、放射線照射後の細胞周期異常を引き起こしていることが示唆された。</p> <p>結論: 本研究から、OXR1 が ROS 依存的・非依存的に放射線照射後のゲノム安定性維持機構に貢献していることが示された。今後、放射線照射細胞において、OXR1 による superoxide 産生制御、細胞周期制御メカニズムを明らかにしていきたい。</p> <p><b>2) 放射線照射後のミトコンドリア DNA 損傷が及ぼす細胞全体への影響のさらなる解明</b></p> <p>背景・目的・結果: 本研究では、核局在の OGG1 過剰発現 HeLaS3 細胞株では、放射線照射により誘発される 8-oxoG が過剰に除去されることで DNA 二本鎖切断が多量に形成され、細胞の放射線感受性が増加することを確認している。この結果を基に、ミトコンドリア局在 OGG1 (OGG1-type2a) の過剰発現細胞株を使用し、放射線照射後のミトコンドリア DNA 損傷が及ぼす細胞全体への影響のさらなる解明を目的としている。すでに OGG1-type2a 過剰発現によって放射線に対する細胞感受性が高まることが見出しており、ミトコンドリア DNA 酸化損傷は細胞全体に影響を及ぼしうることが示唆される。現在、OGG1-type2a 過剰発現による放射線照射後の核ゲノムへの影響を調べるため、微小核形成率の測定を試みている。</p> <p><b>3) 低線量率放射線照射により産生される ROS, 酸化 DNA 損傷の細胞への影響の解明</b></p> <p>背景・目的・結果: 低線量率放射線によって産生される ROS および酸化 DNA 損傷が与える細胞への影響に関する知見は、損傷の検出の難しさから不十分である。本研究では、</p>		

	<p>OXR1 の酸化ストレス抑制機能、OGG1 の酸化塩基損傷除去機能に注目し、低線量率放射線照射により産生される ROS, 酸化 DNA 損傷の細胞への影響に関してさらなる知見を得ることも目的としている。本研究では、核局在 OGG1 過剰発現細胞株が低線量率 X 線照射に対して高感受性を示すことを見出している。これは、①低線量率放射線により産生される ROS によって核 DNA が損傷されること、②それは、一度に短時間で除去されると DNA 鎖切断に変換され細胞死を誘発しうるほどの量であることを示している。今後、OGG1 過剰発現細胞株および OXR1 ノックダウン・過剰発現細胞株を使用し、より低線量率放射線により誘発される ROS の細胞致死への影響・細胞死誘発機構の解明を行なって行きたい。</p>
<p>研究発表</p>	<p>(学会発表)</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 松井 亜子、小林 純也、秋山 (張) 秋梅 酸化ストレス抵抗遺伝子 OXR1 は細胞周期制御を介してゲノム安定性に貢献している 日本遺伝学会第 89 回大会 ,岡山大学一般教育棟および創立五十周年記念館 (岡山県・岡山市) ,2017.9.13-16</li> <li>2. 松井亜子、小林純也、橋口一成、安井明、秋山 (張) 秋梅 Oxidation Resistance 1(OXR1)は放射線照射による細胞機構異常を防御している . 日本放射線影響学会 第 60 回大会,京葉銀行文化プラザ(千葉県・千葉市) ,2017.10.25-28</li> <li>3. 秋山 (張) 秋梅、松井亜子、橋口一成、細木彩夏、小林純也 ヒト OXR1 の放射線応答と細胞周期制御 . 日本放射線影響学会 第 60 回大会,京葉銀行文化プラザ(千葉県・千葉市) ,2017.10.25-28</li> <li>4. 吉川幸宏、山崎晃、小林純也、富田雅典、鈴木雅夫、秋山-張 秋梅 酸化塩基 8-oxoG 修復酵素ヒト OGG1 過剰発現細胞の放射線感受性. 日本宇宙生物科学会第 31 回大会 ,群馬会館 (群馬県・前橋市) ,2017.9.20-22</li> <li>5. 吉川幸宏、山崎晃、鈴木雅雄、小林純也、富田雅典、秋山 (張) 秋梅 8-oxoG 修復タンパク OGG1 過剰発現の細胞影響 . 日本放射線影響学会 第 60 回大会,京葉銀行文化プラザ(千葉県・千葉市) ,2017.10.25-28</li> <li>6. Ako Matsui, Junya Kobayashi, Kazunari Hashiguchi, and Qiu-Mei Zhang-Akiyama. Oxidation resistance 1 (OXR1) inhibits superoxide production and regulates cell cycle arrest after irradiation. 33<sup>rd</sup> International Symposium of Radiation Biology Center, Kyoto University, Dec. 4-5, 2017. Hotel Co-op Inn Kyoto.</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 Functional analysis of RAD51 protein complex in DNA repair		
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が、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。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 (12 Gy) 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、ヒストンバリエント H2A.Z-2 の損傷依存的な SUMO 化修飾による交換反応が、RAD51 のゲノム損傷依存的な核内フォーカス形成に関わっていることを明らかにし、Nucleus 誌に発表した。また、RAD51 の損傷依存的なクロマチン、特に染色体転座の切断点集中領域への結合を制御するメカニズムの解析に取り組み、IN080 クロマチン再構成複合体構成因子の ATM によるリン酸化がこの制御に重要であることを見出し論文投稿した。</p>		
研究発表	<p>〈論文発表〉</p> <p>1. SUMO modification system facilitates the exchange of histone variant H2A.Z-2 at DNA damage sites. Fukuto A, Ikura M, Ikura T, Sun J, Horikoshi Y, Shima H, Igarashi K, Kusakabe M, Harata M, Horikoshi N, Kurumizaka H, Kiuchi Y, Tashiro S. Nucleus. 2018 Jan 1;9(1):87-94.</p> <p>〈学会発表〉</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 「細胞核高次構造によるゲノム修復機構の制御」2017 年度生命科学系学会合同年次大会 (第 40 回日本分子生物学会年会) 発表 田代聡 (2017 年 12 月 7 日)</li> <li>2. "Nuclear topography of homologous recombinational repair" The 3rd Hiroshima International Symposium on Future Science "Frontiers in Bioimaging Based Life Science" 発表 田代聡 (2018 年 3 月 21 日)</li> <li>3. "A structural role of RAD51 during homologous recombinational repair" 2017 年度イメージング若手の会 光塾 ポスター発表 堀越保則 (2017 年 9 月 5 日)</li> <li>4. 「RAD51 による相同組換え修復の構造的機能制御」2017 年度生命科学系学会合同年次大会 (第 40 回日本分子生物学会年会) ポスター発表 堀越保則 (2017 年 12 月 6 日)</li> <li>5. "A structural role of RAD51 during homologous recombinational repair" 第 35 回染色体ワークショップ・第 16 回核ダイナミクス研究会 ポスター発表 堀越保則 (2017 年 12 月 21 日)</li> </ol>		

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 Analysis of NBS1 function for DNA double strand break repair		
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			
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 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ッシングに関わるタンパク質として知られる。NBS1 を含む複合体は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ので、本研究では、1) 高頻度で相同組換えを示すニワトリ 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) の再結合脳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きた。これらの成果については、最終的なまとめ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を継続して実施し、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ので、今年度は、より詳細な分子機構を明らかにするために変異 NBS1 を用いた解析に取り組んだが、細胞系および条件の再検討が必要となった。今後は実験条件の再検討を行い、データ取得を目指す予定である。</p>		
研究発表	<p>〈論文発表〉</p> <p>1. Royba, E., Miyamoto, T., Akutsu, S.N., Hosoba, K., Tauchi, H., Kudo, Y., Tashiro, S., Yamamoto, T., Matsuura, S.: Evaluation of ATM heterozygous mutations underlying individual differences in radiosensitivity using genome editing in human cultured cells. <i>Scientific Reports</i> 7, 5996, 2017</p> <p>〈学会発表〉</p> <p>1. 田部井由依、佐藤圭汰、小摩木里奈、大橋由佳、小林穂波、坂本敬祥、布施谷清香、坂本裕貴、小松賢志、田内 広：DNA 二重鎖切断の相同組換え修復に対する損傷応答キナーゼ活性の役割. 生命科学系学会合同年次大会 (日本分子生物学会年会), 神戸, 2017.12.7</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 The effect of radiation or genomic stresses to telomere stability in HUVEC cells		
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>真核細胞は直鎖状のゲノム DNA をもっており、細胞分裂時に半保存的複製で次世代細胞に受け継がれる。細胞分裂を重ねると染色体末端のテロメア DNA は短縮していく。ヒト正常体細胞を培養すると、細胞分裂の末に不可逆な分裂停止に至ることが知られており、この状況を細胞老化と呼ぶ。テロメア構造は細胞分裂による細胞老化の制御要因であると考えられている。一方、放射線、紫外線、ROS への暴露などのゲノムストレスは早期の細胞分裂停止（早期細胞老化とよぶ）を誘導することが知られている。しかし、これらのストレス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で測定し、未処理の若い細胞や細胞分裂による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、テロメア DNA 結合タンパク質である 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、早期の細胞分裂停止の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細胞老化の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	〈論文発表〉〈学会発表〉 なし		



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 A Differentiation Analysis of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells after Rotator Cuff Repair by Using Bone Marrow Chimeric Rat		
研究代表者	氏名	所属	職名
	森原 徹 Toru Morihara	京都府立医科大学運動器機能再生外科学（整形外科） Kyoto Prefectural University of Medicine	准教授 Associate Professor
研究協力者	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
	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
	大西 興洋	京都府立医科大学運動器機能再生外科学（整形外科）	大学院生
所内連絡者		放射線生物研究センター	
研究概要	平成29年度は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。今後データをまとめて論文投稿の予定である。		
研究発表	〈論文発表〉〈学会発表〉 なし		

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 Analysis of non-canonical DNA repair pathway regulated by RNF8		
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	教授
研究協力者	平出祥啓	同上	特任研究員
	中嶋一裕	同上	特任研究員
	富田亜希子	同上	技術補佐員
所内連絡者	高田 穰	放射線生物研究センター	
研究概要	<p>RNF8 が DNA 架橋の修復において果たす役割を解明するため、DT40 やヒト細胞から作成したノックアウト細胞を用いて、高田教授らと共同研究を行った。特に、高田教授らのグループが作成したノックアウト細胞を分与され、その解析を進めている。また、DNA 架橋修復に、SLX4 nuclease scaffold の集積が重要と考えられるが、RNF8 およびその下流で機能する RNF168 によるなんらかの基質のユビキチン化によってその集積が c 仲介されている可能性がある。RNF168 の会合因子をマスマスペクトロメトリーで同定し、その因子の同定を試みた。さらに解析を進めている。</p>		
研究発表	<p>〈論文発表〉〈学会発表〉</p> <p>1. Structural insights into two distinct binding modules for Lys63-linked polyubiquitin chains in RNF168. Takahashi TS, Hirade Y, Toma A, Sato Y, Yamagata A, Goto-Ito S, Tomita A, Nakada S, Fukai S. Nat Commun. 2018 Jan 12;9(1):170.</p> <p>2. Precise and efficient nucleotide substitution near genomic nick via noncanonical homology-directed repair. Nakajima K, Zhou Y, Tomita A, Hirade Y, Gurumurthy CB, Nakada S. Genome Res. 2018 Feb;28(2):223-230.</p>		

研究題目	ヒト $\gamma$ -H2AX/H2B 複合体の解析 Analyses of human $\gamma$ -H2AX/H2B complex		
研究代表者	氏名	所属	職名
	関 政幸	東北医科薬科大学・薬学部	教授
研究協力者	中林 悠	東北医科薬科大学・薬学部	助手
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>ヒト<math>\gamma</math>-H2AX/H2B 複合体を解析するにあたり、我々自身で開発した <b>FALC (Functional Analysis of Linker-mediated Complex) 法</b> (<i>Proc. Natl. Acad. Sci. USA.</i> 111, 699-704, 2014) を用いることにした。この方法は、分子生物学的手法が可能になって 40 年以上が経過する中、はじめてマルチサブユニット（ヒストン二量体や八量体も該当する）複合体中の共通サブユニットの細胞機能の特定を可能にしたものである。FALC 法は出芽酵母における H2A.Z/H2B 複合体に適用されたが、その方法がヒトを含めた脊椎動物細胞でも機能するかは定かではない。そこで、ヒト <math>\gamma</math>-H2AX/H2B 複合体の実験にとりかかる前に、出芽酵母を用い FALC 法が動物細胞で機能する可能性をまず示し、次にニワトリ DT40 細胞を用いて FALC 法が H2A.Z/H2B 複合体に適用できること、の実証実験を行い、その後最終目的であるヒト<math>\gamma</math>-H2AX/H2B 複合体の解析に着手する戦略をとった。</p> <p>酵母では各ヒストン遺伝子が 2 コピーしかなく、ゲノム上のヒストン遺伝子を容易に KO でき、そこに遺伝子改変したプラスミド上のヒストン遺伝子を酵母に導入すれば済んだ (<i>PNAS</i> 2014)。一方、動物細胞のヒストン遺伝子は多コピーであり、事実上すべての KO は困難である。そこで、まず出芽酵母のゲノムのヒストン遺伝子を温存させたまま、H2A.Z/H2B 複合体を対象とした FALC 法が作動できるか調べた。その結果、野生型ヒストン遺伝子が細胞に残存していても FALC 法は機能した。つまり、FALC 法は野生型ヒストン遺伝子を有する動物細胞においても機能する可能性が高まった。</p> <p>次に、ニワトリ DT40 細胞の H2A.Z 遺伝子破壊株（多数の H2B 遺伝子は野生型）に FALC 法で作製した H2B-H2A.Z 連結ヒストンを導入したところ、H2A.Z KO による致死性が相補された。ここで、連結ヒストンの H2B 部分に D68A 点突然変異を導入した DT40 H2A.Z KO 細胞は致死性を示した。これは、多コピーの野生型 H2B 遺伝子が温存されていようと、連結 H2B (D68A)-H2A.Z の機能が現れたことを意味する。このことは、ヒト細胞において FLAC 法を用いた <math>\gamma</math>-H2AX/H2B 複合体の解析が、理論的に可能であることを示唆する。</p>		
研究発表	<p>(論文発表)</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Yoshimura, A., Yabe, H., H., Akatani, M., Seki, M., and Enomoto, T. (2017) Simultaneous depletion of WRNIP1 and RAD52 restores resistance to oxidative stress. <i>Toxicol. Sci.</i> 4, 1-7.</li> <li>2. Yoshimura, A., Seki, M., and Enomoto, T. (2017) The role of WRNIP1 in genome maintenance. <i>Cell Cycle</i> 16, 515-521.</li> </ol> <p>(学会発表)</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 関 政幸、マルチサブユニット複合体中の共通サブユニットの機能解析 第 17 回日本蛋白質科学会年会，仙台，2017 年 6 月</li> </ol>		

研究題目	がん関連ヒストン変更による、がん化機構の解明 Molecular analyses of cancer associated histone mutations		
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 (現・東京大学、 定量生命科学研究所)	教授
研究協力者	有村泰宏	早稲田大学・理工学術院	助教
	小林航	早稲田大学・理工学術院	助教
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>真核生物の染色体の基本構造単位はヌクレオソームとよばれる、ヒストンタンパク質-DNA の複合体である。申請者の胡桃坂らは、がんゲノムデータベースを用いて同定した点変異を含むヒストンは、ヌクレオソームの構造を変化させ、さらにヌクレオソームを著しく不安定にすることを明らかにしている。しかし、これらのヒストンの変異が細胞のがん化に及ぼす影響については、未だ明らかにすることができていなかった。本共同研究は、ヒストンの変異と細胞がん化の関連性およびそのメカニズムを明らかにする事を目的に、京都大学放射線生物研究センターにおいて、点変異を有するヒストン(H2B E76K, H3.1 E97K, H2A.Z R80C)を発現する高等真核生物の培養細胞を作製し、コロニー形成アッセイによってヒストン変異が細胞のがん化に及ぼす影響を解析した。その結果、H2B E76K もしくは H3.1 E97K の変異ヒストンを発現した NIH3T3 細胞は、コロニー形成活性が上昇することが明らかになった。さらに、変異ヒストン発現細胞のコロニー形成活性が上昇する原因を明らかにするために、細胞の増殖速度および、各細胞周期における分布を解析した。</p> <p>本共同研究から、ヒストンの変異が、がん細胞にみられるような、コロニー形成能の高い細胞状態へと細胞を変化させることが明らかになった。本成果は、<i>Nucleic Acid Research</i> 誌に学術論文として発表した。</p> <p>今後、本研究をもとに、疾患に関与するヒストン点変異による影響の解析が進むことで、ヌクレオソームを介した、ゲノム DNA の転写や複製、修復等のプロセスの制御機構の解明に繋がることが期待される。また、新規抗がん剤の開発や新規の診断マーカーの確立に多くの知見をもたらすことが期待できる。</p>		
研究発表	<p>〈論文発表〉</p> <p>1. Arimura, Y., Ikura, M., Fujita, R., Noda, M., Kobayashi, W., Horikoshi, N., Sun, J., Shi, L., Kusakabe, M., Harata, M., Ohkawa, Y., Tashiro, S., Kimura, H., Ikura, T. and Kurumizaka, H., Cancer-associated mutations of histones H2B, H3.1 and H2A.Z.1 affect the structure and stability of the nucleosome. Nucleic Acids Res. (<i>in press</i>) doi: 10.1093/nar/gky661.</p>		

研究題目	DNA 損傷修復における核内アクチンファミリーの機能解析 Roles of nuclear actin family proteins in DNA damage repair		
研究代表者	氏名	所属	職名
	原田 昌彦	東北大学 大学院農学研究科	准教授
研究協力者	尾間 由佳子	東北大学大学院農学研究科	准職員
	高橋 大輔	東北大学大学院農学研究科	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>クロマチンおよび細胞核の構造が、DNA 損傷修復の制御に関与していることが示されている。クロマチンおよび細胞核の機能構造の形成に重要な役割を果たすタンパク質として、核内のアクチンファミリーが知られている。アクチンファミリーは、アクチンとアクチン関連タンパク質によって構成されており、これらはクロマチンリモデリング複合体やヒストン修飾複合体の構成因子として機能するほか、細胞核内部構造形成を介して、ゲノム機能を制御する。本研究では、核内アクチンファミリーが、DNA 損傷修復にどのように関与するかについて、解析を行なうことを目的とした。</p> <p>核内のアクチンファミリーの機能を解析するために、既にこれらの遺伝子をノックアウトした細胞株や、ノックダウンコンストラクトを準備している。これらのノックアウト細胞株、およびノックダウンコンストラクトを導入した細胞株に対して DNA 損傷を誘導し、DNA 損傷の発生やその修復を観察することにより、これらの核内アクチンファミリーが、DNA 損傷修復にどのように関与するかを解析した。その結果、アクチン関連タンパク質 Arp8 破壊細胞において、DNA 損傷修復能の低下が観察された。</p> <p>本研究の遂行にあたっては、放射線生物研究センターの井倉博士と意見交換しながら、核内アクチンファミリーの DNA 損傷修復への関与に焦点をあて、共同研究を行った。核内アクチンファミリーは出芽酵母からヒトまで進化的に高く保存されたタンパク質であり、またがん細胞などでの発現変化や変異なども報告されている。したがって、本研究の今後の進展は、進化的に保存された、クロマチン・細胞核レベルでの DNA 損傷修復メカニズムの解明や、その知見の医学的な応用展開にも大いに寄与すると期待している。</p>		
研究発表	なし		

研究題目	大腸癌肝転移に対するインスリン様増殖因子中和抗体治療におけるマトリックスペロテアーゼ7のバイオマーカーとしての有用性 Evaluation of matrix metalloproteinase 7 as a predictive biomarker in the insulin like growth factor neutralizing antibody treatment against liver metastasis of colon carcinoma		
研究代表者	氏名	所属	職名
	宮本 心一	附属病院内視鏡部	助教
研究協力者	瀬戸山 健	がんセンター	医員
	二階堂 光洋	医学研究科消化器内科	大学院生
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	大腸がん細胞株 Colon26 にルシフェラーゼを組み込んだものに、さらに MMP-7 をトランスフェクションした細胞株と空ベクター挿入した株をマウスに脾注し、肝転移を作成した。同モデルマウスに、IGF 中和抗体を投与し、MMP-7 発現の有無による肝転移抑制効果を比較した。Lumina II を用いて in vivo や ex vivo で imaging を行い、肝転移を評価した。IGF 中和抗体により転移が小さくなる傾向がみられたものの、MMP-7 発現の有無による肝転移抑制効果には有意差がみられなかった。		
研究発表	〈論文発表〉〈学会発表〉 なし		



研究題目	膵β細胞イメージングに関する研究 Development of noninvasive pancreatic beta cell imaging method		
研究代表者	氏名	所属	職名
	藤本 裕之	京都大学 環境安全保健機構 放射性同位元素総合センター	助教
研究協力者	藤田直尚	浜松圭太	村上隆亮
所内連絡者	原田 浩	放射線生物研究センター	
研究概要	<p>2型糖尿病の主な病因は、インスリン分泌不全とインスリン抵抗性である。中でもインスリン分泌不全は、インスリンを分泌する膵β細胞の機能(個々のインスリン分泌能)低下と膵β細胞の数の減少が要因であると考えられる。インスリン分泌能に関しては、血糖値や血中インスリン量など臨床レベルで評価可能であり、診療に用いられている。しかしながら、膵β細胞量に関しては、現在のところ生体で、非侵襲的に評価可能な手法の開発が行われていない。そこで我々は、膵β細胞特異的に集積する放射性同位元素標識プローブを開発し、その可能性について検討を進めている。</p> <p>今年度は、貴センターの IVIS システムを利用させて頂くことにより、膵β細胞特異的にルシフェラーゼを発現するマウス(Rip-Luc マウス)を用いた検討を進めた。</p> <p>実際には、膵β細胞量を定量する手法としてマウスレベルで生体発光イメージングによる方法と、放射性同位元素標識プローブを用いる方法それぞれについて、その有用性を同一個体での評価を行うことで比較検討を行った。その結果、放射性同位元素標識プローブを用いた方法では、糖尿病モデルである高血糖マウスにおいて膵β細胞量、膵臓へのプローブ集積ともに有意に低く、生体発光での評価では有意な低下を認めなかった。今後、膵β細胞量とプローブ集積の相関について検討を進める予定である。</p>		
研究発表	<p>〈学会発表〉 非侵襲的膵β細胞定量法に関する比較検討:放射性同位元素標識プローブと生体発光イメージング 藤田直尚、藤本裕之、浜松圭太、村上隆亮、木村寛之、佐治英郎、稲垣暢也 第61回日本糖尿病学会年次学術集会 2018年5月(24日-)26日 東京国際フォーラム他</p>		

研究題目	マウスモデルと臨床材料を用いた消化器がん転移の研究 investigation of gastrointestinal cancer metastasis in mice and patient derived tumor samples		
研究代表者	氏名	所属	職名
	武藤 誠	京都大学医学研究科	特命教授
研究協力者	三好 弘之	京都大学産官学連携本部	特任准教授
	柿崎 文彦	京都大学医学研究科	研究員
	青山 尚規	京都大学医学研究科	研究員
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>本研究は以下の二項目を目的として実施された。(1) がん細胞移植モデルマウス、腫瘍自然発症モデルマウス、転移関連遺伝子改変マウスを用いて消化器癌の転移機構を解明する。(2) 臨床材料を用いた研究から得た知見を(1)と融合し発展させることで、がん患者の予後(生存率)予測法・化学療法戦術を確立する。</p> <p>これらを達成するために、ルシフェラーゼを発現する腫瘍細胞をマウスに移植し、その動態を <i>in vivo</i> で解析した。まず、ルシフェラーゼに対して免疫寛容を持つトランスジェニックマウスを作出した。このマウスに対して、ルシフェラーゼを導入した同系由来のがん細胞を移植し、IVIS (Lumina II、放射線生物研究センター)を用いてルシフェラーゼ活性の経時的な観察を行った。これらの研究によって、腫瘍の拡大や転移を定量的に解析する移植実験の方法を新規に樹立し、論文として報告した。</p> <p>また、近年われわれが確立した三次元培養法を用いて、約 50 人の大腸がん患者由来のがん幹細胞スフェロイドを樹立し、ルシフェラーゼ遺伝子を導入した。これらのルシフェラーゼ発現スフェロイドを、Nude マウスまたは NOG マウスなどの免疫不全マウスに移植し、IVIS でルシフェラーゼ活性を解析することによって、移植がんの形成や成長を、経時的に解析する方法を確立した。今後、この方法を用いて、<i>in vivo</i> での新規の化学療法の評価や、個別の患者に対する治療戦略選定方法の開発などを行う予定である。</p>		
研究発表	<p>〈論文発表〉</p> <p>1. Aoyama N, Miyoshi H, Miyachi H, Sonoshita M, Okabe M, Taketo MM. Transgenic mice that accept Luciferase- or GFP-expressing syngeneic tumor cells at high efficiencies. <i>Genes Cells</i>. Epub 2018 May 11</p>		

研究題目	DNA 損傷チェックポイント因子 RAD9 ホモログの進化における機能変遷 The evolutionary analysis of DNA damage sensor checkpoint proteins		
研究代表者	氏名	所属	職名
	小柳香奈子	北海道大学・大学院情報科学研究科	准教授
研究協力者			
所内連絡者	古谷寛治	放射線生物研究センター	
研究概要	<p>ゲノム DNA 上の損傷が DNA チェックポイント機構により検出されると、細胞増殖の停止を始めとする様々な細胞応答が発動される。本研究ではこれらの応答制御を担う DNA チェックポイント機構が、進化上どのように発展してきたのか分子進化の視点からとらえることを目的とする。</p> <p>本共同研究においては、DNA 損傷検出の主役である RAD9 タンパク質複合体に着目した。RAD9 ホモログの分子系統解析により、脊椎動物の進化の初期に、遺伝子重複により RAD9A と RAD9B が進化したことがわかった。さらに、それぞれのタンパク質に固有のアミノ酸サイトや、各進化過程で起きたアミノ酸置換の変遷過程も推定された。</p> <p>今後は、上記により明らかとなった配列の特徴と、古谷によって明らかにされた酵母とヒトにおける RAD9 タンパク質の機能調節を担う一連の重要なタンパク質間相互作用に関するデータとを合わせることで、DNA 損傷の検出機構がどのような変遷を経て進化してきたかが明らかになることが期待される。</p>		
研究発表	<p>〈学会発表〉</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 小柳香奈子「エピゲノム情報の系統解析による細胞分化過程の推定 -哺乳類の血球系細胞分化をモデルとして」分子生物学会 2017 年 12 月</li> <li>2. 飯田雅, 花岡希望, 藤本嗣人, 伊藤晋, 出口隆, 安田満, 小柳香奈子, 渡邊日出海「Human mastadenovirus における尿道炎発症に関わるサイトの探索」日本性感染症学会 2017 年 12 月</li> <li>3. 富岡駿, 井上望太郎, 小柳香奈子, 渡邊日出海「全北区において隔離分布するダイセツタカネヒカゲ <i>Oeneis melissa</i> の種分化過程に関する研究」日本進化学会 2017 年 8 月</li> <li>4. 飯田雅, 小柳香奈子, 日隈陸太郎, 青木功喜, 渡邊日出海「Human mastadenovirus における流行性角結膜炎原因アミノ酸サイトの探索」日本感染症学会 2017 年 4 月</li> </ol> <p>〈Proceedings〉</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>5. Aoki K, Koyanagi KO, Watanabe H “Method of detecting errors and classifying mixed genomes based on the characteristics of reads orientation” GSB Workshop - Big-data Analysis, IoT and Bioinformatics (2017)</li> </ol>		

研究題目	シロイヌナズナにおける分化した組織での DNA 損傷応答の解析 DNA damage response occurred in defferentiated tissues in <i>A.thaliana</i>		
研究代表者	氏名	所属	職名
	愿山 郁	京都産業大学 総合生命科学部	研究員
研究協力者	馬瀬樹志	京都産業大学 総合生命科学部	学部 4 年生
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>これまでの植物における DNA 損傷応答機構の研究は、主に茎頂分裂組織や根端分裂組織といった分裂組織に注目されて行われてきた。しかし植物の通常の生育条件を考えると、紫外線や自然放射線といった環境要因から DNA 損傷を受けるのは主に葉や花、茎といった分化した組織である。これらの分化した組織の細胞が DNA 損傷を受けるとどのような応答反応が生じるのかはこれまでほとんど研究されていなかった。そこで本研究では分裂組織以外の分化した組織における DNA 損傷応答機構を明らかにすることを目的とした。</p> <p>DNA 相同組換えに関与する BRCA1 は、分裂組織においてガンマ線照射に応答してその転写量が約 60 倍上昇することが知られている。そこでまずシロイヌナズナの BRCA1 の全長に GUS 遺伝子を結合させたトランスジーンが組み込まれた形質転換植物体を作製し、ガンマ線照射した後、分裂領域とそれ以外の領域における BRCA1 のレスポンスに違いがあるかを調べた。これまでの報告どおり、分裂領域では BRCA1 の発現がガンマ線照射によって上昇していたが、分化した領域（本葉）ではそのような発現の誘導は認められなかった。同じくガンマ線照射により分裂領域において発現量が上昇することが知られている CYCB1;1 についても CYCB1;1:GUS を持つ形質転換体を用いて同様の実験を行ったが、分裂領域と分化した本葉ではその転写レスポンスに違いはなかった。以上の結果より、分裂領域で認められる放射線照射に応答した遺伝子の発現誘導は、分化した領域では生じていないことが明らかになった。DNA 損傷応答のレギュレーターである SOG1 の発現量は、分裂組織においてガンマ線照射によって上昇しないことが知られている。今回、SOG1:GUS の発現量がガンマ線照射によって変化するかどうかを分化した本葉で調べたところ、ガンマ線照射 24 時間後には本葉のトライコームで発現の上昇が認められた。これまで SOG1 タンパク質は細胞分裂が活発な領域のみに存在し、さらに DNA 損傷の有無によってその発現は変動しないと考えられてきたので、今回の結果は興味深い。ガンマ線照射を受けた本葉におけるトライコームの形成に SOG1 の働きがどのように関与しているのかについては、今後のさらなる解析によって明らかにする予定である。</p>		
研究発表	<p>〈論文発表〉〈学会発表〉</p> <p>1.</p>		

研究題目	細胞レベルでの電波による遺伝的背景への影響調査 Influence on the genetic background by exposure to electromagnetic fields at the cellular level		
研究代表者	氏名	所属	職名
	宮越 順二	京都大学 生存圏研究所	特任教授
研究協力者	小山 眞	京都大学 生存圏研究所	特任講師
	成田英二郎	京都大学 生存圏研究所	研究員
	篠原 真毅	京都大学 生存圏研究所	教授
所内連絡者	高田 譲	放射線生物研究センター	教授
研究概要	<p>近い将来 (2020 年のサービス開始が予定されている)、世界的に普及が見込まれる第 5 世代移動通信サービス (5G) や超高速無線 LAN などで使用される超高周波帯 (28GHz 帯)、また無線電力伝送 (WPT) 等による中間周波帯 (85kHz 帯) の電波が、人体にどのように影響を及ぼすか、現在まで明確なデータは示されていない。本研究は、細胞を用いた遺伝的背景に関しての電波影響評価を目的としている。</p> <p>平成 29 年度の主体となる研究としては、新しい電波ばく露装置、ばく露システムの構築であった。85kHz 中間周波磁場発生装置としては、最大出力 2kW の中間周波発生電源、送電用コイル、受電用コイル、受電装置等を選定した。受電用コイルで受電した電力の値を送電側にフィードバックして出力の制御を行っている。そのため、受電用コイルが必要な装置となる。細胞培養用のシャーレは送受電のコイル間に設置することになる。一方、28GHz 超高周波発生装置としては、27-29GHz での 40W 増幅器、28GHz 信号発生器、送電用導波管アンテナを選定した。28GHz WPT は、送電アンテナから放射された超高周波は、受電アンテナの有無に関わらず放射されるため、受電アンテナは不要であり、出力の安定制御は受電側に測定点を設置して、その値を用いて制御を行う。細胞培養用のシャーレは送電アンテナの下の適当な位置に配置されることになる。</p> <p>細胞の入手に関して、本研究に至適な候補細胞 (XP や AT、健常者由来) を放射線生物研究センター、JCRB 細胞バンク、ATCC、KURABO などから入手し、細胞増殖、コロニー形成能、細胞周期分布、放射線感受性、紫外線感受性などを調べた。その結果、紫外線高感受性細胞として、XP 患者から樹立された細胞として、XP-A では XP-EMB1 細胞、XP-Variant では XP-2SA 細胞が本研究に相当であると判断した。また、形質転換または、遺伝子改変した細胞として、XP-A では XP-2OSSV 細胞、XP-Variant では HeLaS3POLH KO 細胞が相当であると判断した。電離放射線高感受性細胞として、AT 患者から樹立された細胞として、AT2KY 細胞が相当であると判断した。また、遺伝子改変細胞として、RPE1hTERT ATM<sup>-/-</sup>clone1 細胞が相当であると判断した。現在、新たに入手した XP、AT 由来細胞の検討も継続して実施している。</p> <p>平成 30 年度以降の研究計画では、電波ばく露による、遺伝的背景の異なる細胞における、次世代シーケンサーを用いた RNA シーケンス、<math>\gamma</math>H2AX による DNA 二本鎖切断の解析や RPA フォーカスによる一本鎖 DNA の露出実験などを予定している。</p>		
研究発表	<p>〈論文発表〉〈学会発表〉</p> <p>研究は、平成 29 年 7 月から開始しており、学会発表、論文発表はなし。</p>		

研究題目	ヌクレオチド除去修復に関与する新規遺伝子の探索 Screening of novel genes involved in nucleotide excision repair		
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>ヌクレオチド除去修復(NER)は我々の生体内において最も多様な DNA 損傷を修復する修復機構である。この機構の遺伝的欠損は色素性乾皮症、コケイン症候群、紫外線高感受性症候群などの疾患の原因となる。NER に必須な修復因子は全て同定されているが細胞内の環境においてこの修復機構が円滑に機能するために必要な補因子群については未だ明らかにされていないことが多い。我々は昨年度ヒストンアセチルトランスフェラーゼ HBO1 が NER に関与していることを報告した[1]。この報告に続き NER に必要とされる未知の因子を同定するため NER により修復されるシクロブタン型ピリミジン二量体(CPD)の除去を定量するアッセイ(CPD assay)を確立した。この CPD assay を用いて方生研所有の siRNA library で処理をした細胞のスクリーニングを行なっている。現在およそ 650 個の遺伝子についてスクリーニングを終えている。この中から既知の機能より推測して NER に直接しうる遺伝子産物について高次の評価を行いつつある。今後さらに siRNA library を用いたプライマリースクリーニングを続けると共に同定した個々の遺伝子産物の分子的機能解析を進める。</p> <p>[1] Niida et al. Nat Commun. 8:16102. doi: 10.1038/ncomms16102. (2017)</p>		
研究発表	<p>〈論文発表〉〈学会発表〉</p> <p>1. 紫外線による DNA 損傷修復におけるヒストン修飾の意義 太陽紫外線防御研究委員会第 28 回シンポジウム 招待講演 (2018 Mar. 16, メルパルク京都)</p> <p>2. UV damage response mediated by HBO1 Invited seminar at Seoul National University (2017 Sep. 20, Seoul National University)</p>		



研究題目	pH 応答性色素の開発と評価 Synthesis and Evaluation of pH-Responsive Dyes		
研究代表者	氏名	所属	職名
	三木 康嗣	京都大学大学院 工学研究科 物質エネルギー化学専攻	准教授
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>pH 変化にตอบสนองする色素は、異なる pH 環境を可視化できるプローブとして有用である。当研究室ではこれまでに、血管造影剤として知られるインドシアニングリーンの分子内に求核性官能基を結合させることで、光腫瘍イメージングに適する pH 応答性近赤外シアニン色素を開発した<sup>1</sup>。</p> <p>本研究では、細胞内小器官の可視化を目的として、可視領域（波長 600–650 nm 付近）で吸発光する pH 応答性 Cy5 系色素 <b>1</b> を合成した（図 1）。得られた色素 <b>1</b> の緩衝液中での紫外–可視吸収スペクトルを示す（図 2a）。300–400 nm 付近の吸収シグナルが閉環体 <b>1-C</b> に、600–700 nm にかけての吸収シグナルが開環体 <b>1-O</b> に由来する。pH が小さくなるにつれて閉環体 <b>1-C</b> の吸光度が小さくなり、開環体 <b>1-O</b> の吸光度が大きくなることがわかった。<b>1</b> の 650 nm における吸光度を様々な pH においてプロットした（Figure 2b）。<b>1</b> は pH 3~8 で吸光度が大きく変化し、その pKa は 4.9 であった。</p> <p><b>1</b> を含む培地中、4 °C で HeLa 細胞を培養したところ、培養した細胞の吸光度はほとんど増大しなかった。しかし、37 °C で培養した場合、<b>1</b> を用いた培養において顕著な吸光度の増大が観測された。<b>1</b> がエンドサイトーシス経路で細胞内へ移行し、細胞内の酸性条件を認識し、閉環体から開環体に構造変化したためと考えられる。</p> <p>参考文献 1: K. Miki, K. Kojima, K. Oride, H. Harada, A. Morinibu, K. Ohe, <i>Chem. Commun.</i> <b>2017</b>, 53, 7792-7795. 【以前の共同研究結果】</p>		
研究発表	<p>〈学会発表〉</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>「可視領域で吸発光特性を示す pH 応答性 Cy5 系色素の合成と物性」○麻植雅裕、三木康嗣、原田 浩、森嶋章代、大江浩一【ポスター発表】、第 7 回 CSJ 化学フェスタ、2017 年 10 月 17 日～19 日、タワーホール船堀（東京）【優秀ポスター発表賞を受賞】</li> <li>「細胞内低 pH 環境の可視化を指向した pH 応答性 Cy5 系色素の開発」○麻植雅裕、三木康嗣、原田 浩、森嶋章代、大江浩一【ポスター発表】、日本ケミカルバイオロジー学会第 13 回年会、2018 年 6 月 11 日～13 日、東京医科歯科大学（東京）</li> </ol>		

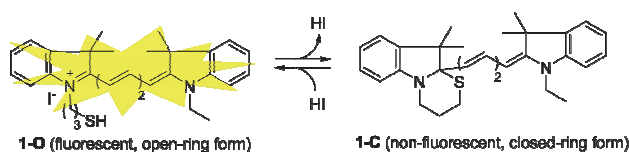


図 1. 開発した pH 応答性色素 **1** の構造。酸性条件下では、発光性の開環体 **1-O** に、塩基性条件下では、発光性を持たない閉環体 **1-C** となる。

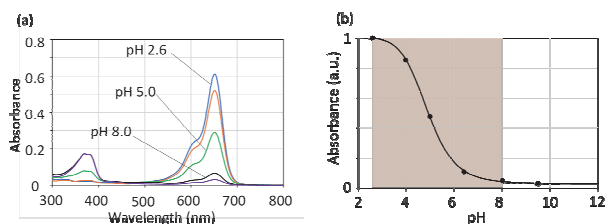


図 2. (a) 色素 **1** の UV-vis 吸収スペクトル ( $5.0 \times 10^{-6}$  M, DMSO/buffer = 1/300, 界面活性剤 triton X-100 ( $2.0 \times 10^{-3}$  M) 共存下)。 (b) 650 nm において規格化した **1** の吸光。

研究題目	ヌードマウスでの増殖に及ぼす小胞体ストレス応答関連遺伝子破壊の影響解析 Analysis of effect of knocking out genes involved in the unfolded protein response on growth in nude mice		
研究代表者	氏名	所属	職名
	森 和俊	京都大学 大学院理学研究科	教授
研究協力者	金 聖宇	同上	大学院生
所内連絡者	原田 浩	放射線生物研究センター	
研究概要	<p>哺乳動物小胞体ストレス応答には、IRE1、PERK、ATF6 の3経路が存在し、IRE1 経路と PERK 経路の破壊はがん細胞のヌードマウスでの増殖を抑制することが報告されている。今回我々は、ATF6 経路（ATF6α と ATF6β の2つが存在する）の破壊がヌードマウスでの増殖にどのような影響を及ぼすか明らかにするため、大腸癌由来細胞 HCT116 を用いて、ATF6α 単独破壊細胞、ATF6β 単独破壊細胞、ATF6αATF6β 二重破壊細胞を樹立した。IRE1α 破壊細胞を陽性コントロールとして、これらの細胞をヌードマウスへ移植し、それらの増殖を調べたい。</p> <p>解析の結果、ATF6αATF6β 二重破壊細胞が予想と異なる表現型を示したため、さらなるコントロールとして、ATF6αIRE1α 二重破壊細胞を樹立している。</p>		
研究発表	<p>〈論文発表〉〈学会発表〉 なし</p>		

研究題目	ヒト細胞におけるビグアナイド薬剤メトフォルミンのグルコース枯渇下での選択的致死性の解析 Analysis of cytotoxicity of a biguanide drug, metformin, in glucose-deprived human cells		
研究代表者	氏名	所属	職名
	田野恵三	京都大学原子炉実験所 (現複合原子力科学研究所)	准教授
研究協力者			
所内連絡者	高田 穰	放射線生物研究センター	
研究概要	申請者はすでにニワトリ DT40 細胞を用いて、メトフォルミンがグルコース枯渇下で DNA 損傷を伴う選択的致死性を示すこと、DNA 損傷修復欠損細胞パネルを用いた解析から、FANC 経路欠損細胞群で感受性が現れることを見いだした。この表現型がヒト細胞においても観察されるかどうか、ヒト B 細胞株 TK6 において FANC 遺伝子をノックアウトし解析を進めている。		
研究発表	<p>〈論文発表〉</p> <p>1. Selective cytotoxicity of the anti-diabetic drug, metformin, in glucose-deprived chicken DT40 cells. Kadoda K, Moriwaki T, Tsuda M, Sasanuma H, Ishiai M, Takata M, Ide H, Masunaga SI, Takeda S, Tano K. PLoS One. 2017 Sep 19;12(9):e0185141.</p> <p>2.</p>		

研究題目	虚血負荷による初代培養系グリア細胞の機能・形質変化の解析 Analysis of primary glial cells to hypoxia in vitro.		
研究代表者	氏名	所属	職名
	眞木 崇州	医学研究科 臨床神経学	助教
研究協力者	安田 謙	医学研究科 臨床神経学	大学院生
	木下 久徳	医学研究科 臨床神経学	大学院生
所内連絡者	原田 浩	放射線生物研究センター	
研究概要	<p>脳梗塞や脳血管性認知症に対する治療法は進歩しているものの未だ限定的である。その要因として、これまでの研究が、主に神経細胞という単一の細胞種に着目してきたことが考えられる。脳の複雑な機能を制御するには、脳内外の異なる細胞種同士が適切に相互連携する必要がある。そのため、神経系・グリア系・血管系細胞を一つのユニット (Neurovascular Unit) として考え、脳を包括的に保護しようとする方向に研究が進んでいる。Neurovascular Unit を構成する細胞種のうち、脳内に広く分布するオリゴデンドロサイト前駆細胞 (oligodendrocyte precursor cell, OPC) がオリゴデンドロサイトの供給源という既知の役割を超えて、脳内外の他の細胞種と直接相互作用し、脳の恒常性維持のために多彩な機能を有していることを申請者らは見出ししてきた。しかしながら、脳虚血後の OPC の役割については不明な点が多く残されている。また、一つの細胞種においても脳内領域や病的環境により多くの形質 (phenotype) があることが近年報告されつつあるが、病的環境下での OPC の形質変化については未解明の点が多い。そのため、本研究では脳虚血後の OPC の動態や形質変化を明らかにし、脳血管障害に対する新規治療へと展開する研究基盤を確立することが目的である。</p> <p>これまでのところ、以下のことを見出している。</p> <p>① 脳梗塞モデルマウスの虚血領域で、"perivascular OPC"が増加し、脳梗塞後の血管新生の過程と連動する。</p> <p>② 初代培養系 OPC に対して虚血負荷をかけると、多くの遺伝子発現がダイナミックに変化する。</p> <p>しかしながら、脳虚血後に増加し形質変化する OPC の詳細な役割や他の細胞種との相互作用の変化については不明であるため、今後さらなる検討を続けていく予定である。</p>		
研究発表	<p>〈学会発表〉 Natsue Kishida<sup>1,2</sup>, Takakuni Maki<sup>1</sup>, Hisanori Kinoshita<sup>1</sup>, Yasushi Takagi<sup>2</sup>, Ryosuke Takahashi<sup>1</sup> <sup>1</sup>Department of Neurology, Kyoto University, Graduate School of Medicine. <sup>2</sup>Department of Neurosurgery, Kyoto University, Graduate School of Medicine. Elucidation of the roles of oligodendrocyte precursor cells after stroke. 平成 29 年 7 月 神経科学大会</p>		

研究題目	nanobody による細胞内蛋白を標的としたがん治療の確立 Establishment of cancer therapy by nanobodies targeting transcription factors		
研究代表者	氏名	所属	職名
	稲野将二郎	関西電力医学研究所 臨床腫瘍研究部門	研究員
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	exosome を介して、nanobody を細胞内へ浸透させ細胞内蛋白に対する分子標的治療の基盤を創出することを目的として、種々の基礎検討を行う。		
研究発表	〈論文発表〉〈学会発表〉 1. 2.		

研究題目	活性化 B 細胞様びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫モデルマウスの作出 Establishment of mouse models for activated B-cell like diffuse large B-cell lymphoma		
研究代表者	氏名	所属	職名
	岩井 一宏	細胞機能制御学	教授
研究協力者	城 友泰	細胞機能制御学	大学院生
所内連絡者	高田 穰	放射線生物研究センター	センター長
研究概要	<p>B 細胞リンパ腫の 15-20% を占める活性化 B 細胞様びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (ABC-DLBCL) は予後不良の病型であり、その病態に恒常的 NF-<math>\kappa</math>B 活性化が特徴的である。我々は直鎖状ポリユビキチン鎖と同ユビキチン鎖を選択的に生成する LUBAC リガーゼが、B 細胞リンパ腫ドライバー変異である MyD88 L265P 変異と協調して ABC-DLBCL の発症を促進することを報告してきた。</p> <p>本研究ではマウスを用いて LUBAC が ABC-DLBCL 発症を生じる機序の解明を進め、LUBAC が B 細胞において AID による体細胞変異蓄積を促進する可能性が示唆された。そこで我々は LUBAC が DNA 損傷による細胞死を抑制するとの仮説をたて、そのメカニズムの解明を目指した。</p> <p>DNA 損傷による細胞死に対して LUBAC が抑制的に作用するという仮説を実証すべく、LUBAC 発現を変化させた細胞株を用いて電離放射線やシスプラチン、エトポシドなどの薬剤により DNA 損傷を誘導した。LUBAC の機能を喪失させた細胞では DNA 損傷による細胞死が亢進し、一方で LUBAC 機能亢進細胞では細胞死が抑制されたことから、DNA 損傷が誘導する細胞死を LUBAC が確かに抑制することが示された。</p>		
研究発表	〈学会発表〉 1. 2017 年度生命科学系学会合同年次大会 1P-1016 恒常的 NF- $\kappa$ B 活性化を伴う B 細胞リンパ腫モデルマウス作出の試み		



研究題目	代謝拮抗剤による DNA 損傷応答に関する研究 DNA damage response induced by antimetabolites		
研究代表者	氏名	所属	職名
	北尾 洋之	九州大学薬学研究院 抗がん剤育薬共同研究部門	教授
研究協力者	飯森 真人	同上	准教授
所内連絡者	高田 穰	放射線生物研究センター	センター長
研究概要	<p>5-FU に代表される代謝拮抗剤は、がん細胞内の代謝経路を攪乱し、細胞殺傷能を発揮することが知られている。代謝拮抗剤は様々な種類のがんに対する抗腫瘍薬として古くから臨床の場で利用されているにも関わらず、それぞれの代謝拮抗剤の作用は複雑であり、その作用メカニズムは必ずしも明らかとなっていないとは言えない。</p> <p>申請者は、代謝拮抗剤や代謝拮抗剤と併用して使用されることの多い抗がん剤を対象として、投与時に誘導される DNA 損傷応答とその抗腫瘍効果との関連について研究を進めてきた。これまでに 5-FU (Fujinaka et al. 2012, Nakanishi et al. 2012)、オキサリプラチン (Kiyonari et al. 2015)、カンプトテシン (Sakasai et al. 2012, Sakai et al. 2012)、ヌクレオシドアナログであるトリフルリジン (Matsuoka et al. 2015; Kitao et al. 2016)、タキサン系抗がん剤 (Iimori et al. 2016) について、その新規の作用メカニズムを明らかにしてきた。</p> <p>これまでの研究より、がん細胞内で様々な作用を持つ 5-FU が DNA 損傷応答の中でも、特に DNA 複製過程におけるストレス (DNA 複製ストレス) に対する細胞応答が引き起こされること、さらにその DNA 複製ストレス応答を抑制することで 5-FU の抗腫瘍効果を高めることが出来ることを示してきた (Fujinaka et al. 2012)。がん細胞では一般的に DNA 複製ストレスが高まっていると考えられている。今年度も、主に代謝拮抗剤による DNA 複製ストレス惹起の分子メカニズムの解明とその後の細胞運命についての解析を進めた。また、今年度はこれまでに申請者の研究から見えてきた抗腫瘍薬による DNA 複製ストレスの関わりについて総説にまとめた (Kitao et al. 2018)。</p>		
研究発表	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Nakanishi R, Kitao H, Kiniwa M, Morodomi Y, Iimori M, Kurashige J, Sugiyama M, Nakashima Y, Saeki H, Oki E, Maehara Y. Monitoring trifluridine incorporation in the peripheral blood mononuclear cells of colorectal cancer patients under trifluridine/tipiracil medication. <i>Sci Rep.</i> 7(1):16969 (2017).</li> <li>2. Kitao H, Iimori M, Kataoka Y, Wakasa T, Tokunaga E, Saeki H, Oki E, Maehara Y. DNA replication stress and cancer chemotherapy. <i>Cancer Sci.</i> 109(2):264-271 (2018).</li> <li>3. Tsuda Y, Iimori M, Nakashima Y, Nakanishi R, Ando K, Ohgaki K, Kitao H, Saeki H, Oki E, Maehara Y. Mitotic slippage and the subsequent cell fates after inhibition of Aurora B during tubulin-binding agent-induced mitotic arrest. <i>Sci Rep.</i> 7(1):16762 (2017).</li> <li>4. Ishiai M, Sato K, Tomida J, Kitao H, Kurumizaka H, Takata M. Activation of the FA pathway mediated by phosphorylation and ubiquitination. <i>Mut. Res.</i> 803-805:89-95. (2017)</li> </ol>		

研究題目	DNA 損傷に応答し揺らぐヘテロクロマチン領域のメカニズム解明 Analysis of fluctuating Heterochromatin region by DNA damage		
研究代表者	氏名	所属	職名
	沖 昌也	福井大学 学術研究院 工学系部門	教授
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>同じ DNA 配列から多様な遺伝子発現制御を生み出すエピジェネティックな制御機構は、ヒトなどの細胞分化・発生や疾患のほか、多能性幹細胞“iPS 細胞形成”においても重要な役割を担うとして注目を集めている。エピジェネティックな発現制御機構の 1 つとして、ヘテロクロマチンと呼ばれる高次のクロマチン構造を形成し、内部の遺伝子の発現を抑制する機構が知られている。我々は、現在までに DNA 損傷を誘発するとヘテロクロマチン領域が変動し、通常発現抑制されている遺伝子が動き出すことを見出している。本研究では、様々な放射線や UV による DNA 損傷がヘテロクロマチン領域の揺らぎに異なる影響を及ぼすか、また、その発現誘導メカニズムの違い、更にもどのようなメカニズムで損傷を認識し、特定の染色体上のヘテロクロマチン領域だけを動かすことが出来るのかに関して、分子レベルでのメカニズム解明を目指した。</p> <p>我々は出芽酵母をモデル生物として用い、ヘテロクロマチン領域の形成に必須な Sir3 タンパク質の ChIP on chip 解析及び、<i>sir3</i> 破壊株を用いたマイクロアレイ解析の結果から DNA 損傷の誘発によりヘテロクロマチン領域が変動し、発現状態が変化する遺伝子 <i>DDI2</i>、<i>DDI3</i> を同定した。次に、既に我々が同定していたヘテロクロマチン領域の伸長を制御する境界形成因子の破壊株を作製し、リアルタイム PCR により発現量の変化を定量し、ヘテロクロマチン領域の揺らぎにより <i>DDI2</i>、<i>DDI3</i> の発現を制御する因子 <i>Sas2</i> を同定した。</p> <p>また、現在までに、蛍光タンパク質を用いた 1 細胞レベルでの発現状態の変化を追跡するシステムを確立しており、<i>DDI2</i>、<i>DDI3</i> の発現状態の変化を 1 細胞レベルで追跡し、規則性を見出した。</p> <p>今後は、下記モデルに記載されている、DNA ダメージに応答し、<i>Sas2</i> を <i>DDI2</i>、<i>DDI3</i> の領域に運んでくる因子の同定、及び、<i>Sas2</i> がヘテロクロマチン領域を変動後に、発現を制御する因子を同定する。</p>		

研究題目	二種の分裂酵母を用いたゲノム DNA 損傷応答機構の多様性の考察 Distinction of genome DNA damage response between two different fission yeasts		
研究代表者	氏名	所属	職名
	仁木 宏典	情報システム機構・国立遺伝学研究所・系統生物研究センター	教授
研究協力者			
所内連絡者	古谷寛治	放射線生物研究センター	講師
研究概要	<p>一般に二形性酵母はゲノム DNA ストレスや栄養源枯渇などの環境変化に応じて菌糸体へと増殖形式を変換させる。本研究では二形性酵母である分裂酵母 <i>japonicus</i> 種での菌糸体への変換に必要な因子群を同定することを目的とした。様々な二形性酵母においては菌糸体への変換に MAP キナーゼ経路が働くことが報告されてきていたが、<i>japonicus</i> 種では MAPK 経路は菌糸体への増殖変換に必須ではないことが明らかとなった。その一方で MAPK 経路と並行して働く、<i>cdc42</i> 経路が Ras 遺伝子とともに <i>japonicus</i> 種では菌糸体への増殖変換に必要であることが明らかとなった。このことは RAS 遺伝子に誘導される細胞極性の獲得が重要なステップであることが示唆され、細胞がいかにしてストレス下で形態変化を伴いながら増殖を進めるか明らかとなると考えている。</p>		
研究発表	<p>〈論文発表〉〈学会発表〉</p> <p>1. The Ras1-Cdc42 pathway is involved in hyphal development of <i>Schizosaccharomyces japonicus</i>. Nozaki S, Furuya K, Niki H. FEMS Yeast Res. 2018 Jun 1;18(4).</p> <p>2. <i>Schizosaccharomyces japonicus</i>: A Distinct Dimorphic Yeast among the Fission Yeasts. Aoki K, Furuya K, Niki H. Cold Spring Harb Protoc. 2017 Dec 1;2017(12)</p> <p>3. Mating, Spore Dissection, and Selection of Diploid Cells in <i>Schizosaccharomyces japonicus</i>. Furuya K, Niki H. Cold Spring Harb Protoc. 2017 Dec 1;2017(12):</p>		

研究題目	転写反応と共役した DNA 二本鎖切断修復反応機構の解析 Analyses of transcription-coupled DBS repair system		
研究代表者	氏名	所属	職名
	倉岡 功	福岡大学理学部	教授
研究協力者	塩井成留実	福岡大学理学部	助教
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>放射線により細胞は生じる DNA 損傷に応じて様々な損傷応答を行う。例えばタンパク質のリン酸化、アセチル化、ユビキチン化は、損傷応答の一つとして考えられ研究されている。DNA 損傷を認識する上で転写反応は重要な起点となることが考えられる。</p> <p>この研究は、放射線によって生じた DNA 鎖切断が、その修復タンパク質の遺伝情報を転写産物レベルで解析し、その修復タンパク質の新規機能を明らかにすることを目的とする。</p> <p>生化学的解析として、ヒト細胞 HeLa の抽出液を用いた無細胞系の実験系を構築するために、放射線において生じる 8-oxoG およびその副生成物としての DNA2 本鎖切断を有する新規の DNA 基質を調整した。この基質は 8-oxoG を有するクラスターDNA 型の基質であり、インビトロで短時間で調整できるようになった。この基質を用い精製タンパク質で解析した結果、興味深いことに想像していた DNA2 本鎖切断を生み出すことはなかった。現在その詳細を解析している。</p>		
研究発表	<p>〈学会発表〉</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. ヌクレオチド切除修復システムによって修復される DNA 損傷の検出アッセイ 倉岡功, 高塚玲音, 岩井成憲 (日本環境変異原学会大会)</li> <li>2. A study of a novel nucleotide excision-repairable DNA lesion Kuraoka Isao (6th US-Japan DNA repair meeting)</li> <li>3. New assay to detect DNA-damaging agents in water pollution using DNA enzyme functions. Yukiko Suematsu, Mika Yukutake, Narumi Shioi, Isao Kuraoka The 5th international symposium on Aqua Science and Water Resources</li> <li>4. An Assay to Detect DNA-Damaging Agents that Induce Nucleotide Excision-Repairable DNA Lesions Reine Takatsuka, Shigenori Iwai, Noriko Suematsu, Narumi Shioi and Isao Kuraoka THE 12TH INTERNATIONAL CONFERENCE &amp; 5TH ASIAN CONGRESS ON ENVIRONMENTAL MUTAGENS</li> <li>5. Alternative excision repair model for topoisomerase mediated DNA damage Kuraoka Isao (18th All India Congress of Cytology and Genetics &amp; International Symposium on Translating Genes and Genomes)</li> </ol>		

研究題目	放射線照射がもたらす NRF2 複合体の変化とその生物学的意義の解析 Modulation of NRF2 nuclear complex in response to gamma-irradiation		
研究代表者	氏名	所属	職名
	本橋ほづみ	東北大学加齢医学研究所	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>NRF2 は酸化ストレスに応答して核内に蓄積する転写活性化因子である。しかし、電離放射線がもたらす活性酸素種がその核移行と核内での局在、クロマチン結合などにどのように影響するかについての詳細な解析はなされていない。そこで、本研究では、細胞核のマイクロラジエーションと核内 NRF2 複合体のプロテオーム解析を組み合わせ実施することにより、NRF2 の電離放射線に対する応答の分子機構を明らかにすることを目的とした。</p> <p>井倉研究室ですでに立ち上がっている蛋白質複合体精製法を用いて、NRF2 複合体の精製の予備実験を実施した。HeLa 細胞に FLAG-HA ダブルタグがついた NRF2 を過剰発現させたが、その発現量が高い細胞がなかなか得られず、NRF2 複合体を量的におおく取得するのが難しかった。</p> <p>NRF2 複合体の構成因子が、放射線障害によってどのような影響を受けるのかについて細胞内の局在を蛍光免疫組織学的解析と放生研に設置されている UV-micro-irradiation 法を用いて今後検討する予定である。</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> <p>まだ該当するものはない。</p>		

研究題目	細胞内代謝の放射線による変動解析 Effects of radiation on cellular metabolism		
研究代表者	氏名	所属	職名
	白木琢磨	近畿大学・生物理工学部	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>(研究の目的) 放射線にさらされた細胞は、DNA 損傷修復に伴い様々な細胞内ネットワークを再編成する。本研究では特に転写ネットワーク、代謝ネットワークの観点で放射線照射後の変動を解析する。</p> <p>(研究概要) 平成29年度は、放射線の種類、強さ、時間などのパラメータを検討するとともに、使用する細胞株についても比較を行った。特にDNA 損傷修復の中でも2本鎖切断に応答して動くNBS1やγH2AXの免疫染色、GFP融合蛋白質を用いたfoci形成を指標にすることで、条件を幅広く検討することができた。時間の関係で、平成29年度は転写ネットワーク、代謝ネットワークの変動を直接解析するまでは至らなかった。</p>		
研究発表	<p>〈論文発表〉 1. なし</p> <p>〈学会発表〉 2. なし</p>		



研究題目	大腸癌悪性化における PD-1/CCR1 阻害併用療法の検討 PD-1/CCR1 Inhibitory Study for Colorectal Cancer		
研究代表者	氏名	所属	職名
	河田健二	京都大学大学院 医学系研究科 消化管外科	講師
研究協力者	喜安佳之	京都大学大学院 医学系研究科 消化管外科	大学院生
	西川元	京都大学大学院 医学系研究科 消化管外科	大学院生
	本間周作	京都大学大学院 医学系研究科 消化管外科	大学院生
	花田 圭太	京都大学大学院 医学系研究科 消化管外科	大学院生
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>癌周囲の微小環境における免疫機構には、T リンパ球のみではなく間質細胞（線維芽細胞など）や骨髄由来の免疫抑制細胞などが腫瘍周囲に集簇し関与している。我々は今までに大腸癌浸潤・転移におけるケモカイン受容体 CCR1 陽性の骨髄由来細胞の役割を臨床検体や癌細胞株を使って検討してきた。そのメカニズムを、CCR1 ノックアウトマウスを使用してさらに詳細に検討し、PD-1 抗体と CCR1 阻害との併用性についても検討する。</p>		

研究題目	メダカの精巣を用いた低線量率放射線被ばく影響の解析 Analysis of the low-dose-rate irradiation in medaka testis		
研究代表者	氏名	所属	職名
	三谷 啓志	東京大学大学院 新領域創成科学研究科	教授
研究協力者	尾田 正二	東京大学大学院 新領域創成科学研究科	准教授
	永田 健斗	東京大学大学院 新領域創成科学研究科	大学院生 (D2)
所内連絡者	小林純也	放生研・ゲノム動態研究	准教授
研究概要	<p>小型のモデル魚類であるメダカ (<i>Oryzias latipes</i>) は、放射線生物影響の実験生物学モデルとして、古くから研究が行われてきた。メダカの精原細胞は放射線に対して高感受性であり、さらに p53 を欠損するメダカではガンマ線の高線量 (率) 急性照射 (合計線量 5 Gy) によって精原細胞から卵様細胞である精巣卵が誘導されることが報告されている (Yasuda <i>et al.</i>, 2012)。また、これまでの研究で低線量分割照射 (5 x 100 mGy) でも精巣卵が誘導されることがわかっており、p53 欠損メダカにおける精巣卵誘導は、低線量 (率) 放射線に対しても極めて感度が高いことが示唆されている。精巣卵は精原細胞から異常に分化していることから、メダカをモデルとした精巣卵誘導の分子機序の解明によって、生殖細胞の放射線影響の詳細な評価が可能となり、昨今関心が高まっている低線量 (率) 放射線被ばくの生態系影響研究にも貢献できると期待できる。</p> <p>そこで本研究では、京大放生研の低線量率ガンマ線照射装置を用いてメダカ成魚に長期慢性照射し、その精巣組織を解析して精巣卵の誘導を評価することを目的とした。</p> <p>今年度の共同研究においては、低線量 (率) での慢性照射を長期的 (1 週間程度) に実施するため、照射中においてもメダカの自由遊泳を確保できる照射実験系を確立するために必要なデータの収集を行った。照射室内に 5 L の飼育水 (市販のミネラルウォーター) を注水した小型の水槽 (幅 30 cm, 奥行 10 cm, 深さ 25 cm) を設置した。水温は 26-28 度 C に設定し、タイマーを使用して LED 照明を制御し照明サイクルを明期 14 時間、暗期 10 時間とした。給餌は照射前と終了後に市販の粉餌を与えた。</p> <p>上記条件で p53 欠損メダカ成魚に対して 24 時間の連続照射 (合計線量 100 mGy, 線量率 0.069 mGy/min) を実施したが、今回の実験では 24 時間の照射後に複数匹のメダカが死亡してしまい、今回の実験では 24 時間の照射後に複数匹のメダカが死亡してしまい、コントロール群とした非照射個体の魚群でも同様に複数の死亡個体が出たため、組織解析に予定したサンプル数を得ることができなかった。</p> <p>来年度の共同利用研究においては、千葉県柏市の東大・柏キャンパス研究室から京大・放生研への運搬方法も含めて、目標である 1 週間の連続照射のためのメダカ成魚の維持方法の確立を進める必要がある。照射前日までにメダカ成魚を運搬し終え、ストレスを軽減させる等の運搬手順を再考する。さらには飼育水中のアンモニアおよび亜硝酸濃度の測定を行い、水質の維持に努める。</p> <p>1 週間の連続照射した成魚については、まず組織学的な解析のため、照射終了後 1 週間に化学固定し組織切片を作成・検鏡する。精巣卵数の定量化、細胞死の有無に着目して解析を行い、低線量 (率) 慢性被ばくによる影響を評価する。</p>		
研究発表	該当なし		

研究題目	アリ科女王の貯蔵精子の不動態メカニズム Mechaisms of sperm immobilization stored in and queens		
研究代表者	氏名	所属	職名
	後藤彩子	甲南大学理工学部生物学科	講師
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>女王アリは羽化後まもない時期にしか交尾しないため、この時に受け取った精子を寿命が続く限り貯蔵する。アリ科の多くの種の女王の寿命は十年以上と、昆虫としては例外的に長寿のため、精子貯蔵期間も極端に長い。しかし、これまでに精子を長寿化させるメカニズムは解明されていない。</p> <p>これまでに申請者は、女王アリの精子貯蔵器官である受精囊の中で精子が不動態化されていることを明らかにした。精子を不動態化させることは活性酸素の発生などを抑制できるため、長期間の精子貯蔵に重要な要素であると考えられる。受精囊内がほぼ無酸素状態であったことから、エネルギー産生に必要な酸素が欠乏することにより精子が不動態化させていると仮説を立てた。本申請では、これを検証するため、無酸素状況下で精子が運動するかを調べようとしている。</p>		
研究発表	<p>〈論文発表〉〈学会発表〉 特になし</p>		

研究題目	乳癌の脂肪酸代謝の低酸素応答に関する研究 The effect of hypoxia on fatty acid metabolism of breast cancer		
研究代表者	氏名	所属	職名
	川島 雅央	乳腺外科学	助教
研究協力者	井上 将	乳腺外科学	研究補助員
所内連絡者		放射線生物研究センター	
研究概要	脂肪代謝関連因子の knock down 乳癌細胞株と比較対象群となる乳癌細胞株を低酸素ワークステーション内で培養、増殖を行った。 培地と細胞を回収し、脂肪酸組成分析を行った。		
研究発表	〈論文発表〉〈学会発表〉 なし。		

研究題目	放射線による核小体ストレス応答機構の制御と新規放射線治療戦略の開拓 Nucleolar stress response by radiation and a novel radiation therapy		
研究代表者	氏名	所属	職名
	河原 康一	鹿児島大学大学院医歯学総合研究科分子腫瘍学分野	講師
研究協力者	古川龍彦	鹿児島大学大学院医歯学総合研究科分子腫瘍学分野	教授
	崎山明恵	鹿児島大学大学院医歯学総合研究科分子腫瘍学分野	研究員
	下川倫子	鹿児島大学大学院医歯学総合研究科分子腫瘍学分野	特任研究員
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>核小体ストレス応答は、癌抑制因子 p53 を制御する新たな機構として注目されている。薬剤、接触抑制、栄養飢餓などによるリボソーム構築過程の障害は、RPL5 や RPL11 などのリボソームタンパク質の核小体からの遊離を促進させ、これが核小体外の核質領域に存在する MDM2 と結合する。結果として、MDM2 による p53 の分解が抑制され、p53 依存性の細胞増殖が抑制される核小体ストレス応答を起こす (図 1)。</p> <p>放射線は核小体構造や機能に障害することが知られている。また、我々は放射線照射によって核小体ストレス応答を制御する因子の発現が変動することも明らかにしている。しかしながら、放射線による核小体への障害と核小体ストレス応答との関連性はこれまで知られていない。</p> <p>本研究では、独自の開発した核小体ストレス応答を細胞レベルで蛍光シグナルとして検出できるレポーターシステムを活用し、核小体ストレス応答が放射線照射によるストレス応答の新たな機序となるか、この応答が放射線がん治療の感受性に決める要因となるかを解明することを研究目的とし、以下を検討する。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) 核小体ストレス応答を蛍光輝点シグナルとして検出できるレポーター細胞へ放射線を照射し、蛍光レポーター活性を測定し、核小体ストレス応答の活性化を明らかにする。</li> <li>2) 放射線照射後の核小体構造変化と、核小体ストレス応答の相関を明らかにする。</li> <li>3) RPL11 siRNA によって核小体ストレス応答を抑制した細胞へ放射線を照射し、p53 経路分子の増加や細胞生存性を検討し、放射線による p53 経路の活性化と細胞生存性の低下の核小体ストレス応答依存性を明らかにする。</li> </ol> <p>本年度は上記の共同研究を進めるため、京都大学でご担当いただく原田浩教授と、鹿児島大学の担当者とは協議し、機器の使用や今後の研究実務について事前の協議を行い、試験を効率的に実施できるよう計画を策定した。平成 30 年度に上記の課題に研究実務を開始し、放射線照射の細胞応答や放射線治療感受性を決める機構を新たに開拓したい。</p>		
研究発表	<p>〈論文発表〉〈学会発表〉</p> <p>本申請研究は、平成 29 年度 12 月に開始したばかりであり、平成 29 年度 3 月末までの間、研究成果の報告には至っていない。平成 30 年度は研究を効率的に進め、数多くの研究成果を発表できるように、精力的にプロジェクトに取り組む。</p>		

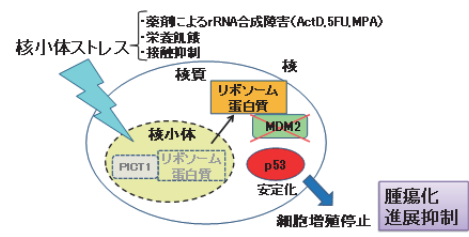


図1. 核小体ストレス応答は腫瘍化進展を抑制する

研究題目	Chk1 シグナル経路を分子標的とした抗がん治療法の確立 Establishment of molecular target therapy against Chk-1mediated signaling pathway		
研究代表者	氏名	所属	職名
	後藤英仁	愛知県がんセンター研究所 腫瘍医化学部・増殖制御研究室	室長
研究協力者			
所内連絡者	古谷寛治	放射線生物研究センター	講師
研究概要	<p>(研究目的) チェックポイントキナーゼ 1 (Chk1) は抗がん治療の良い分子標的として、その阻害剤が開発中である。本研究では、Chk1 シグナル経路により良い分子標的タンパク質が存在するかを検討し、新規の抗がん治療を提言するための分子基盤を整えることを目的とする。</p> <p>Chk1 阻害剤は、正常細胞よりがん細胞で強い殺細胞性を示すことが知られているが、その分子基盤はあまり解明されていない。本研究では、Chk1 を特異的かつ迅速に抑制できる大腸がん細胞株 HCT116-Chk1-mAID を用いて、Chk1 の下流に位置する標的基質を明らかにすることなどを通じて、その作用機序を明らかにしていく。次に、同定した基質が Chk1 阻害剤の治療効果判定のバイオマーカーになりうるかを検討し、さらに、新たな分子標的タンパク質になりうる可能性についても検証していく。本年度、HCT116-Chk1-mAID 細胞株の樹立に成功し、現在、機能を解析中である。</p>		
研究発表	<p>(論文発表)</p> <p>1. Inaba H., Yamakawa D., Tomono Y., Enomoto A., Mii S., Kasahara K., <u>Goto H.*</u>, Inagaki M.*: Regulation of keratin 5/14 intermediate filaments by CDK1, Aurora-B, and Rho-kinase. <b>Biochem. Biophys. Res. Commun.</b> 498: 544-550, 2018 (*correspondence) doi: 10.1016/j.bbrc.2018.03.016</p> <p>2. Tanaka K., <u>Goto H.</u>, Nishimura Y., Kasahara K., Mizoguchi A., Inagaki M: Tetraploidy in cancer and its possible link to aging. <b>Cancer Sci.</b> In press. doi: 10.1111/cas.13717</p>		



研究題目	放射線による DNA 損傷の修復応答へのポリ ADP-リボシル化の関与の解析 Involvement of polyADP-ribosylation in DNA repair response after DNA damage induced by radiation.		
研究代表者	氏名	所属	職名
	益谷美都子	長崎大学大学院・医歯薬学総合研究科	教授
研究協力者	佐々木由香	長崎大学大学院・医歯薬学総合研究科	特任研究員
	井原 誠	長崎大学原爆医療後障害研究所	客員研究員
	茂木 章	京都大学・医学部	助教
所内連絡者	高田 穰	京都大学放射線生物研究センター -	教授
研究概要	<p>ポリ ADP-リボシル化反応は NAD を基質とする翻訳後修飾反応の一つである。ポリ (ADP-リボース) 合成酵素 (PARP) と分解酵素 PARG について機能解析を行い、DNA 修復応答への関与の機構を研究している。放射線による DNA 損傷の応答に PARP によるポリ ADP-リボシル化反応と PARG によるポリ (ADP-リボース) の分解がいかに関わるかを、DNA 修復因子群との相互作用に注目して明らかにし、がんの放射線治療や化学療法、発がん予防の研究の基盤とする。放射線生物研究センターにおいて研究協力を受けることで細胞レベルでの先端的な解析設備を用いて研究を効率的に推進することが可能となる。</p> <p>Parp-1 欠損マウスではアルキル化剤処理後や加齢個体において欠変異頻度が増加することから PARP-1 は正確な DNA 2 本鎖切断修復に必要と考えられる。主な DNA 2 本鎖切断修復系である homologous recombination repair (HRR) と nonhomologous end-joining (NHEJ) に対するポリ ADP-リボシル化の様々な関与が報告されつつある。</p> <p>PARP-1 は BRCA-1 の DNA 2 本鎖断端へのリクルートに必要であり、HRR の制御にも関わる。本年度 2 月から開始となり、3 月にかけて DNA 2 本鎖切断後の 2 本鎖切断部位におけるポリ ADP-リボシル化と DNA 修復因子群との相互作用を解析するための計画を検討し、文献調査を行った。</p>		
研究発表	<p>〈論文発表〉〈学会発表〉</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>なし</li> <li></li> </ol>		

研究題目	がん細胞転移における <i>RECK</i> 遺伝子の役割 Role of RECK in cell metastases		
研究代表者	氏名	所属	職名
	吉田 陽子	京都大学医学研究科・ 分子腫瘍学	研究員
研究協力者	野田 亮	京都大学医学研究科・ 分子腫瘍学	教授
所内連絡者	原田 浩	放射線生物研究センター	
研究概要	<p>近年、<i>RECK</i> が MMP ファミリーの主要な制御因子として、哺乳類の発がん、転移等において重要な役割を演じており、さらに、ヒト腫瘍組織に残存する <i>RECK</i> 量は良好な予後と相関することが報告されている。しかしながら、その詳細な作用機作は、未だ不明である。そこで、私達は、がん転移における <i>RECK</i> の役割を解明するアプローチとして、異なった転移能を持つ腫瘍細胞株間での遺伝子発現プロファイルを比較検討することは重要であると考えた。本計画では、1) 低転移能の腫瘍細胞株、2) 非常に高い転移能を持つその亜株および3) ヒト <i>RECK</i> 遺伝子をノックダウンした亜株細胞を用いて、これら細胞の遺伝子発現プロファイルを比較解析する。その結果、がん転移抑制に不可欠な役割を果たす遺伝子を特定すると共に、がん細胞転移における <i>RECK</i> の役割の解明を行う。</p> <p><u>IVIS LuminaII 使用</u></p> <p>新規がん治療の開発を目的として作成した高肺転移細胞株を、ヌードマウスに移植し自然肺転移に対する治療効果を短期間（19日）で評価する「<i>in vivo</i> imaging system（治療モデル）」を私達は既に構築している（Murai R, et. al, <i>Oncotarget</i>, 2010）。</p> <p>がん細胞における <i>RECK</i> 遺伝子発現と転移能との関連を明らかにする為、遺伝子発現プロファイル比較解析による関連遺伝子群の探索・特定を行うと伴に、これにより抽出された遺伝子群（がん転移抑制に不可欠な役割を果たす <i>RECK</i> 関連遺伝子）について、原発腫瘍増殖能および微小肺転移能に及ぼす影響を「<i>in vivo</i> imaging system」を用いて検討を行った。</p> <p>さらに、この system を用いて、<i>RECK</i> プロモーター活性化を指標とするスクリーニングにより得られた化合物について微小肺転移に及ぼす影響を <i>in vitro</i> および <i>in vivo</i> で検証を行った（上記3種の細胞株）。</p> <p>以上より得られた結果については、現在、投稿準備中である。</p>		
研究発表			

研究題目	哺乳類細胞における低線量電離放射線ストレス応答機構の解析 The molecular mechanism of low-dose ionizing radiation-induced stress response in mammalian cells		
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	三好 知一郎	京大 生命科学研究科	准教授
	久保田 惇	京大 生命科学研究科	M2
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>我々の体を構成している細胞は常に様々な外環境からのストレスに晒されており、様々な種類や強度のストレスに対して適切な応答を行う。このようなストレスの1つに電離放射線ストレスが挙げられる。高線量の電離放射線ストレスに曝された場合の影響は、細胞レベルでは染色体異常や細胞老化、細胞死などを誘導し、個体レベルでは緑内障や発がんリスクの上昇、個体の死などを引き起こすことが知られている。一方で、低線量の電離放射線ストレスは生物に対して、放射線ホルミシスと呼ばれる現象を引き起こすことが示唆されている。ホルミシスとは高濃度、高強度の場合、生物に対して有害に作用するストレスが、低濃度、低強度条件下では有益な作用を生物にもたらす現象のことを指す。これまでに放射線ホルミシスの例として、個体レベルではガン転移の抑制や胸腺リンパ腫の発生の低減、細胞レベルでは細胞増殖の促進や染色体異常の低減などが報告されている。しかし、これらの現象の詳細な分子機構については明らかになっていないのが現状である。</p> <p>本研究では、放射線ホルミシス現象の中でも、低線量電離放射線ストレスによる獲得耐性現象に着目して実験を行っていった。獲得耐性とは、低強度のストレスを前もって個体や細胞に与えておくことで、後続の有害なストレスに対し、耐性を示す現象のことである。この現象は様々な種類のストレスにおいて確認されており、電離放射線ストレスにおいても、低線量電離放射線を前もって照射しておくことで、後続の高線量電離放射線によって引き起こされる細胞や個体の生存率の低下を防ぐ報告などがなされている。しかし、この現象に関しても他の放射線ホルミシス現象と同様に、一部の因子の関与が示唆されているものの、その分子制御機構は不明である。本研究では、電離放射線ストレスによる獲得耐性の詳細な分子制御機構を解明することを目的としている。</p> <p>これまでに我々は、電離放射線の獲得耐性が観察できる条件の検討を行ってきた。すると、不死化させたヒト肺正常線維芽細胞に対して 50 mGy の <math>\gamma</math> 線を照射しておき、その 18 時間後に 10 Gy の <math>\gamma</math> 線の照射を行った際に、高線量放射線照射 7 日後において、細胞老化マーカーである細胞老化関連 <math>\beta</math>-ガラクトシデース活性 (Senescence-associated <math>\beta</math>-galactosidase activity) が陽性となっている細胞の割合が、比較対照の 10 Gy のみを照</p>		

射されたサンプルに比べて約 10 %減少したというデータが得られた (図 1-A, -B)。この結果から低線量電離放射線が、後続の高線量電離放射線によって誘導される細胞老化を抑制した可能性が考えられる。これまでに低線量電離放射線によって、細胞老化が抑制されたという報告はなされていないことから、現在、低線量電離放射線ストレスが細胞老化の抑制を促す分子機構の調査を行っている。

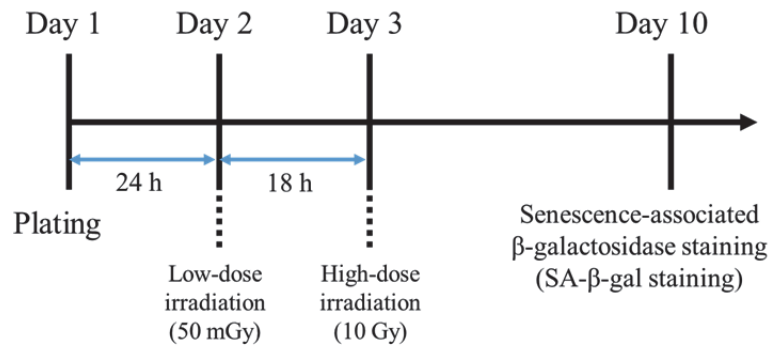


図 1-A

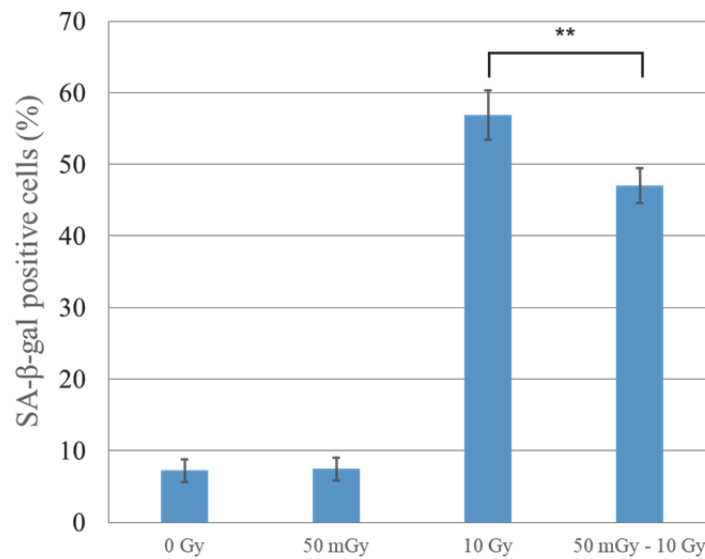


図 1-B

図 1 低線量電離放射線の事前照射による電離放射線ストレス誘導性の老化細胞の割合の変化

A 実験のフローチャート

ヒト胎児性肺正常線維芽細胞 (IMR-90) にヒトテロメラーゼの酵素活性サブユニットである TERT を発現させることで不死化させた細胞を使用した。

B 老化関連 β-ガラクトシダーゼ活性陽性細胞の割合の変化

数値は 3 回の独立した実験の平均である。1 回の実験につき 200 以上の細胞を計数した。有意差はスチューデントの t 検定で算出しており \*\*  $p$  値  $< 0.01$  である。

晩発効果研究部門

Original article

Replication stress induces accumulation of FANCD2 at central region of large fragile genes. Yusuke Okamoto, Watal M. Iwasaki, Kazuto Kugou, Kazuki K. Takahashi, Arisa Oda, Koichi Sato, Wataru Kobayashi, Hidehiko Kawai, Ryo Sakasai, Akifumi Takaori-Kondo, Takashi Yamamoto, Masato T. Kanemaki, Masato Taoka, Toshiaki Isobe, Hitoshi Kurumizaka, Hideki Innan, Kunihiro Ohta, Masamichi Ishiai<sup>1</sup>, Minoru Takata. *Nucleic Acid Res.* 2018 in press

Selective cytotoxicity of the anti-diabetic drug, metformin, in glucose-deprived chicken DT40 cells. Kadoda K, Moriwaki T, Tsuda M, Sasanuma H, Ishiai M, Takata M, Ide H, Masunaga SI, Takeda S, Tano K. *PLoS One.* 2017 Sep 19;12(9):e0185141.

Mochizuki AL, Katanaya A, Hayashi E, Hosokawa M, Moribe E, Motegi A, Ishiai M, Takata M, Kondoh G, Watanabe H, Nakatsuji N, Chuma S. PARI regulates stalled replication fork processing to maintain genome stability upon replication stress in mice. *Mol Cell Biol.* 2017 Sep 11. 37(23). pii: e00117-17.

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. *J Clin Invest.* 2017 Aug 1;127(8):3013-3027.

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.

Common Variable Immunodeficiency Caused by FANC Mutations. Sekinaka Y, Mitsui N, Imai K, Yabe M, Yabe H, Mitsui-Sekinaka K, Honma K, Takagi M, Arai A, Yoshida K, Okuno Y, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Muramatsu H, Kojima S, Hira A, Takata M, Ohara O, Ogawa S, Morio T, Nonoyama S. *J Clin Immunol.* 2017 Jul;37(5):434-444.

Review

Mutation Research special section "Protein modifications in DNA repair and cancer" Editorial. Minoru Takata *Mutat Res.* 2017 Oct;803-805:42.

Mutation Research special section "Protein modifications in DNA repair and cancer" Activation of the FA pathway mediated by phosphorylation and ubiquitination. Ishiai M,

Sato K, Tomida J, Kitao H, Kurumizaka H, Takata M. *Mutat Res.* 2017 Oct;803-805:89-95.

## 日本語総説

ファンconi貧血の新規原因遺伝子*RFWD3/FANCW*の機能解析から明らかになった相同組換え反応制御機構. 稲野将二郎、佐藤浩一、胡桃坂仁志、高田穰 生化学 (印刷中)

新規 Fanconi anemia 遺伝子 *RFWD3/FANCW* の発見と機能解明. 稲野将二郎、高田穰 小児血液がん学会誌 54 巻 (2017) 5 号 p. 287-293

ライフサイエンス 新着論文レビュー Fanconi 貧血の新規の原因タンパク質 *RFWD3* による相同組換えの制御. 稲野将二郎、佐藤浩一、胡桃坂仁志、高田 穰 <http://first.lifesciencedb.jp/archives/16605>

## 書籍

2.18 放射線応答遺伝子の生物種間の保存・相関 石合正道、高田 穰 放射線医学の事典 編集 宮川 清、監修 大西武雄

先天性骨髄不全症 診療ガイドライン 2017. III Fanconi 貧血 担当者 矢部普正、高田穰、村松秀樹 編集 日本小児血液・癌学会 診断と治療社 日本小児血液・がん学会 編集 初版 B5判 並製 96頁 2017年10月31日発行 ISBN9784787823311

## Oral presentations

高田 穰 「ファンconi貧血経路による染色体ストレス応答制御」 「新規ファンconi貧血遺伝子 *RFWD3* による相同組換え修復制御メカニズム」 神戸大学大学院講義&セミナー 現代の生物学 II 2017年12月22日 神戸大学 理学部 5階 C509 (招待講演)

Minoru Takata. Regulation of homologous recombination by a novel FA protein *RFWD3/FANCW*. National Taiwan University. Dec 14th. (Invited lecture)

勝木陽子, 安倍昌子, Haico van Attikum, 中田慎一郎, 鐘巻将人, Yonghwan Kim, 高田穰. ICL 修復因子 *SLX4* は *RNF168* 依存的なユビキチン化経路を介して損傷部位に集積する. 2017年度生命科学系学会合同年次大会 *ConBio2017*, 第40回日本分子生物学会年会ワークショップ. ゲノム恒常性維持機構の破綻と疾患発症の分子メカニズム(3PW02). 2017年12月8日(金). 神戸ポートピアホテル. (招待講演)



複製ストレスにおける染色体脆弱部位への R-Loop 依存性 FANCD2 集積メカニズム. 岡本 裕介、岩寄 航、高橋 数冴、久郷 和人、小田 有沙、河合 秀彦、佐藤 浩一、小林 航、逆井 良、高折 晃史、山本 卓、鐘巻 将人、田岡 万悟、磯部 俊明、胡桃坂 仁志、印南 秀樹、太田 邦史、石合 正道、高田 穰 第40回日本分子生物学会/ConBio2017 一般口演 ゲノムと遺伝情報 V

核内構造体に局在する因子による相同組換え修復制御 松井 美咲、木村 祐輔、安倍 昌子、石合 正道、堀 利行、高田 穰、Stephen Jackson、西 良太郎 分子生物学会ワークショップ 遺伝的組換えの分子メカニズムとその生理的機能と技術応用 神戸 第40回日本分子生物学/ConBio2017

PARI regulates stalled replication fork processing to maintain genome stability upon replication stress in mice. Ayako L. Mochizuki, Ami Katanaya, Eri Hayashi, Mihoko Hosokawa, Emiko Moribe, Akira Motegi, Masamichi Ishiai, Minoru Takata, Gen Kondoh, Hitomi Watanabe, Norio Nakatsuji, Shinichiro Chuma. 日本遺伝学会 第89回大会 2017年9月13日(水)～16日(土) 於 岡山大学

Regulation of homologous recombination by a novel FA protein RFWD3/FANCW. Minoru Takata. Shenzhen University. 1<sup>st</sup> International Symposium on Radiation Therapeutics and Biology (isRTB-2017) Oct. 31-Nov. 1, 2017, Shenzhen

ファンconi貧血とゲノム損傷修復因子：患者サンプル解析による希少疾患病態解明を目指して 高田 穰 金沢大学薬学シンポジウム2017 2017年10月6日 金沢大学自然科学系図書館棟1階 大会議室 (招待講演)

「ファンconi貧血の原因遺伝子探索と相同組換えの新規メカニズム」 高田 穰 名古屋大学 環境医学研究所 平成29年度 基盤医学特論 平成29年9月21日(木) (招待講演)

Biallelic mutations in the ubiquitin ligase *RFWD3* cause Fanconi anemia. Kerstin Knies, Shojiro Inano, María J. Ramírez, Masamichi Ishiai, Jordi Surrallés, Minoru Takata, and Detlev Schindler. 29th Annual Fanconi Anemia Scientific Symposium. Atlanta, Georgia, USA. September 14-17, 2017

Regulation of homologous recombination by a novel FA protein RFWD3/FANCW. Shojiro Inano, Koichi Sato, Yoko Katsuki, Kerstin Knies, Detlev Schindler, Masamichi Ishiai, Hitoshi Kurumizaka, Minoru Takata. Center for Genomic Integrity at UNIST invited lecture, Ulsan, Republic of Korea June 27th

Regulation of homologous recombination repair by a novel Fanconi anemia E3 ligase RFWD3/FANCW. Minoru Takata. 6th US-Japan DNA Repair Meeting, Clark-Kerr Campus, Berkeley, CA, USA. May 17-21, 2017 (invited)

Regulation of homologous recombination by a novel FA protein RFW3. Shojiro Inano, Koichi Sato, Yoko Katsuki, Kerstin Knies, Detlev Schindler, Masamichi Ishiai, Hitoshi Kurumizaka, Minoru Takata. FEBS workshop Nucleotide excision repair and crosslink repair - from molecules to mankind. Smolenice, Slovakia. May 7-11, 2017 (invited)

### Poster presentation

Replication stress induces R-loop-dependent accumulation of FANCD2 at large fragile genes. Yusuke Okamoto, Wataru Iwasaki, Kazuto Kugou, Kazue Takahashi, Arisa Oda, Hidehiko Kawai, Koichi Sato, Wataru Kobayashi, Ryo Sakasai, Akifumi Kondo-Takaori, Takashi Yamamoto, Masato T. Kanemaki, Masato Taoka, Toshiaki Isobe, Hitoshi Kurumizaka, Kunihiro Ohta, Hideki Innan, Masamichi Ishiai, Minoru Takata. 33<sup>rd</sup> Radiation Biology Center International Symposium.

RNF168 mediates the recruitment of SLX4 via ubiquitination during ICL repair. Yoko Katsuki, Masako Abe, Haico van Attikum, Masato Kanemaki, Shinichiro Nakada, Miharu Yabe, Hiromasa Yabe, Yonghwan Kim, Minoru Takata. 3<sup>rd</sup> DNA Replication/Repair Structures and Cancer Conference. Cancun. Mexico. Feb 11-15 2018.

複製ストレスにおける染色体脆弱部位への R-Loop 依存性 FANCD2 集積メカニズム. 岡本 裕介、岩寄 航、高橋 数冴、久郷 和人、小田 有沙、河合 秀彦 5、佐藤 浩一、小林 航、逆井 良、高折 晃史、山本 卓、鐘巻 将人、田岡 万悟、磯部 俊明、胡桃坂 仁志、印南 秀樹、太田 邦史、石合 正道 1、高田 穰. 第 40 回日本分子生物学会/ConBio2017 神戸

核内構造体による DNA 二本鎖切断応答制御機構の解明 松井 美咲、木村 祐輔、安倍 昌子、石合 正道、堀 利行、高田 穰、Stephen Jackson、西 良太郎 第 40 回日本分子生物学会/ConBio2017 神戸

DNA タンパククロスリンク損傷修復における FANCD2 及び TDP1 遺伝子産物の関与 藤池 春奈 1、Mahmoud Shoukamy、Amir Salem、笹沼 博之、高田 穰、武田 俊一、増永 慎一郎、井出 博、田野 恵三 第 40 回日本分子生物学会/ConBio2017 神戸

### 放射線システム生物学研究部門

#### Original article

Wakida T., Ikura M., Kuriya K., Ito S., Shirowa Y., Habu T., Kawamoto T., Okumura T., Ikura T., and \*Furuya K., The CDK-PLK1 axis targets the DNA damage checkpoint sensor protein RAD9 to promote cell proliferation and tolerance to genotoxic stresses.,

eLIFE, (2017) 6: e29953. (京都新聞 12 月 20 日朝刊掲載、関西テレビ「みんなのニュース」12 月 19 日放送)

A Distinct Dimorphic Yeast among the Fission Yeasts *Schizosaccharomyces japonicus*., Aoki K, Furuya K, and \*Niki H., Cold Spring Harb. Protocol, (2017) Vol. 12, 963-973, pdb.top082651.

Mating, Spore Dissection, and Selection of Diploid Cells in *Schizosaccharomyces japonicus*., Furuya, K. and \*Niki, H. Cold Spring Harb. Protocol, (2017) Vol. 12: 992-995, pdb.prot091843.

## 日本語総説

生命科学からみた身心変容、古谷寛治  
身心変容と霊的暴力 年報 (7) 205-209 2018 年 3 月

## 書籍

京大発! フロンティア生命科学、(ISBN-10: 4065038014)  
京都大学大学院生命科学研究科 (担当: 共著, 範囲: 遺伝情報の担い手-DNA)  
講談社 2018 年 3 月

## Oral presentation

古谷 寛治 「がん増殖における DNA チェックポイント因子 RAD9 と PLK1 キナーゼの相互連携の意義」、第 19 回生命科学研究科シンポジウム、2017 年 7 月 6-7 日 (京都大学・芝蘭会館)

古谷寛治、井倉正枝、井倉毅: 「ゲノム損傷ストレス下での細胞増殖を保障する CDK-PLK1 経路による DNA 損傷シグナリングの調節」、日本放射線影響学会第 60 回大会、2017 年 10 月 25-28 日 (千葉市、京葉銀行プラザ)

Kanji FURUYA, Masae IKURA, Tsuyoshi IKURA: "CDK-PLK1 axis targets DNA checkpoint sensor protein RAD9, promoting tolerance to genotoxic stress and cell proliferation.", 33rd International Symposium of Radiation Biology Center, Kyoto University, "Cutting Edge of Radiation and Cancer Biology" 4th-5th December, 2017 (Kyoto COOP-IN)

井倉毅、白木琢磨、古谷寛治、井倉正枝: 「ゲノムストレス応答における機能的蛋白質フラクチュエーション」、ワークショップ「必然から偶然に向かう生物学の新潮流」、2017 年度生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017)、2017 年 12 月 6-9 日、(神戸ポートアイランド)

古谷寛治、井倉正枝、井倉毅：「ゲノム損傷ストレス下での細胞増殖を保障する CDK-PLK1 経路による DNA 損傷シグナリングの調節」第 35 回 染色体ワークショップ・第 16 回 核ダイナミクス研究会 合同開催、2017 年 12 月 20-22 日、（グリーンホテル三ヶ根（愛知県西尾市））

古谷寛治、ゲノム DNA 損傷応答機構の制御とがんシグナリング  
第 6 回 バイオシグナル研究会、2018 年 3 月 16 日、（神戸大学）

### Poster presentation

古谷寛治、井倉正枝、井倉毅：「ゲノム損傷ストレス下での細胞増殖を保障する CDK-PLK1 経路による DNA 損傷シグナリングの調節」、第 40 回日本分子生物学会/ConBio2017 神戸

高橋優喜、服部佑佳子、森明弘、渡辺佳織、櫻井望、須田邦裕、古谷 寛治、上村匡：「捕食者（ショウジョウバエ）・被食者（酵母）双方の遺伝学を用いた個体成長を支える栄養バランスの追求」、第 40 回日本分子生物学会/ConBio2017 神戸

Cnp3(CENP-C) prevents localization of Cnp1(CENP-A) to non-centromeric regions  
須摩美智子、北川哲平、中瀬由起子、中沢宜彦、柳田充弘、松本智裕  
pombe meeting 2017

Multiple mechanisms regulate expression of transposons Tf2 in fission yeast  
中瀬由起子、松本智裕  
33rd International Symposium of Radiation Biology Center, Kyoto University,

TSC signaling pathway and Pka1 cooperatively control expression of retrotransposon Tf2 under nitrogen starvation  
中瀬由起子、高山優子、松本智裕  
pombe meeting 2017

### ゲノム動態研究部門

#### Original article

Katagiri T, Kobayashi M, Yoshimura M, Morinibu A, Itasaka S, Hiraoka M, \*Harada H. HIF-1 maintains a functional relationship between pancreatic cancer cells and stromal fibroblasts by upregulating expression and secretion of Sonic hedgehog. *Oncotarget*. 9:10525-10535. 2018.

Koyasu S, Kobayashi M, Goto Y, Hiraoka M, \*Harada H. Regulatory mechanisms of hypoxia-inducible factor 1 activity: Two decades of knowledge. *Cancer Sci.* 109:560-571. 2018.

Kobayashi M, Morinibu A, Koyasu S, Goto Y, Hiraoka M, \*Harada H. A circadian clock gene, PER2, activates HIF-1 as an effector molecule for recruitment of HIF-1alpha to promoter regions of its downstream genes. *FEBS J.* 284:3804-3816. 2018.

Goto Y, Koyasu S, Kobayashi M, \*Harada H. The emerging roles of the ubiquitination/deubiquitination system in tumor radioresistance regarding DNA damage response, cell cycle regulation, hypoxic responses, and antioxidant properties: Insight into the development of novel radiosensitizing strategies. *Mutation Res.* 803-805:76-81. 2017.

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 Med.* 6:288-297. 2017.

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.

Miki K, Kojima K, Oride K, Harada H, Morinibu A, Ohe K. pH-responsive near-infrared fluorescent cyanine dyes for molecular imaging based on pH sensing. *Chemical Communications.* 53:7792-7795. 2017.

Okamoto A, Sumi C, Tanaka H, Kusunoki M, Iwai T, Nishi K, Matsuo Y, Harada H, Takenaga K, Bono H, Hirota K. HIF-1-mediated suppression of mitochondria electron transport chain function confers resistance to lidocaine-induced cell death. *Sci Rep.* 7:3816. 2017.

Kawamura K, Qi F, Kobayashi J. Potential relationship between the biological effects of low-dose irradiation and mitochondrial ROS production. *J Radiat Res.* 59 (suppl\_2): ii91-ii97. 2018.

Katoh S, Kobayashi J, Umeda T, Kobayashi Y, Nobuo I and Suzuki T. Chronic irradiation with low-dose-rate <sup>137</sup>Cs- $\gamma$  rays inhibits NGF-induced neurite extension of PC12 cells via Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent kinase II activation. *J Radiat Res.* 58:809-815. 2017.

Shimura T, Sasatani M, Kawai H, Kamiya K, Kobayashi J, Komatsu K, Kunugita N. ATM-mediated mitochondrial damage response triggered by nuclear DNA damage in normal human lung fibroblasts. *Cell Cycle.* 16:2345-2354. 2017.

Iijima K, Kobayashi J, Ishizaka Y. Structural alteration of DNA induced by viral protein R of HIV-1 triggers the DNA damage response. *Retrovirology*. 15:e8. 2018.

Nagashima H, Shiraishi K, Ohkawa S, Sakamoto Y, Komatsu K, Matsuura S, Tachibana A, Tauchi H. Induction of somatic mutations by low-dose X-rays: the challenge in recognizing radiation-induced events. *J Radiat Res*. 19:1-7, 2017.

## 著書

原田浩. HIF-1 とがんの代謝. 実験医学. 羊土社. 35:1586-1592. 2017.

原田浩. 放射線治療後のがんの再発メカニズム. 次世代がん治療最前線. 株式会社エヌ・ティー・エス. 2017.

原田浩. 腫瘍の微小環境が癌治療に及ぼす影響. プロからプロへ. 日本医事新報. 2017.

後藤容子、中島良太、原田浩. がん特異的グルコース代謝経路による放射線抵抗性と放射線治療増感への展開. 放射線生物研究. 52:277-290. 2017.

山崎晃、宮路将弘、林悠一郎、森脇隆仁、小林純也、秋山（張）秋梅. 酸化ストレス応答・防御における ATM の最新進展. 放射線生物研究 52:416-425. 2017.

## 学会発表

### 招待講演

原田浩. 照準を合わせろ！ がんに対する放射線治療の現状と課題. 第13回京都大学附置研究所・センターシンポジウム；京都からの挑戦 -地球社会の調和ある共存に向けて-. 岡山. Mar. 17. 2018.

Harada H. Hypoxic Microenvironments in Malignant Solid Tumors. International Mini-symposium on Organs under Stress. CiRA, Kyoto Univ. Kyoto. Feb 16, 2018.

原田浩. がん・低酸素・HIF-1. 国立京都医療センター臨床研究センター特別講演会. 京都. Feb 5, 2018.

原田浩. 腫瘍内微小環境と放射線感受性・抵抗性. JASTRO 第8回放射線生物学セミナー. 東京. Jan. 20. 2018

原田浩. 細胞の低酸素応答を担う新規遺伝子の作用機序と機能. ConBio2017. 神戸. Dec. 8. 2017



原田浩. がんに対する放射線治療の現状・課題・私たちの取り組み; 低酸素バイオロジの視点から. 富山大学医歯薬総合研究科特別講演会. 富山. Nov 24. 2017.

Harada H. How can we overcome tumor radioresistance; lessons from hypoxia biology. The 1st isRTB. China. Oct. 31. 2017.

原田浩. がんに対する放射線治療の現状と課題. 知の拠点セミナー. 東京. Oct. 20. 2017.

原田浩. Radioresistance of Cancer Cells; Lessons from HIF-1 Biology 放射線生物学セミナー in Gifu. 岐阜. Oct. 16. 2017.

原田浩. HIF-1 バイオロジで迫るがんの放射線抵抗性. 若手放射線生物研究専門研究会. 東京. Sep. 2. 2017

原田浩. HIF-1 の生物学: 基礎研究から創薬研究への展開. 新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立シンポジウム. 京都. Sep. 1. 2017.

原田浩. がんの悪性進展と治療抵抗性を担う HIF-1 を中心とする遺伝子ネットワーク. 第 5 回低酸素研究会. 東京. Jun. 29. 2017.

原田浩. がん細胞のグルコース代謝. 第 19 回京都大学大学院生命科学研究所シンポジウム. 東京. Jul. 6-7. 2017.

Harada H. Tumor hypoxia; an imaging and therapeutic target of interest for innovative radiation therapy. The 3rd Bordeaux-Kyoto Symposium. Bordeaux. Jun. 29. 2017.

原田浩. 悪性固形腫瘍内の低酸素環境 -放射線生物学の視点から-. 日本放射線腫瘍学会 第 46 回 放射線による制癌シンポジウム. 名古屋. Jun. 17. 2017.

小林純也. 低線量率放射線照射によるミトコンドリア影響と ROS 産生との関係. 日本放射線影響学会第 60 回大会. 千葉. Oct. 26-28. 2017.

### Oral presentations

Katagiri T, Kobayashi M, Yoshimura M, Morinibu A, Itasaka S, Hiraoka M, Harada H. HIF-1 modulates a functional relationship between pancreatic cancer cells and stromal fibroblasts by upregulating expression and secretion of Sonic hedgehog. 20th. Sugawara & Ohnishi Memorial Symposium of Sensitization of Cancer Treatment. Nara. Feb 4. 2018.

中島良太、後藤容子、子安翔、小林稔、森嶋章代、吉村通央、平岡眞寛、Ester M. HAMMOND、原田浩. UCHL1-HIF-1 経路による放射線治療抵抗性の本態解明と改善の可能性. 第 30 回日本放射線腫瘍学会学術大会. 大阪. 2017 年 11 月 18 日.

Nakashima R, Goto Y, Koyasu S, Kobayashi M, Yoshimura M, Hiraoka M, Harada H. UCHL1-HIF-1 axis-mediated antioxidant property of cancer cells as a therapeutic target for radiosensitization. 第 76 回日本癌学会学術総会. 横浜. 2017 年 9 月 29 日.

Suwa T, Kobayashi M, Mizowaki T, Harada H. Cancer Course Meeting. Genetic screening for novel upstream suppressors of HIF-1. Colloquium of Cancer Course 2017, Kyoto Univ. Graduate School of Medicine. Kyoto, Sep. 10, 2017.

Haitani T, Koyasu S, Akamatsu S, Kobayashi M, Morinibu A, Ogawa O, Harada H. Function and molecular mechanism of ATAD2 in poor prognosis of cancer patients. Colloquium of Cancer Course 2017, Kyoto Univ. Graduate School of Medicine. Kyoto, Sep. 10, 2017.

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 経路による放射線治療抵抗性. 第 23 回癌治療増感研究会. 軽井沢. 2017 年 7 月 15 日. (最優秀演題賞を受賞)

堤ゆり江、吉村通央、平岡真寛、原田浩. 低酸素がん細胞を治療標的とした治療による放射線治療成績の改善. 第 23 回癌治療増感研究会. 軽井沢. 2017 年 7 月 15 日.

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 による HIF-1 を介した放射線治療抵抗性メカニズムの解明. 日本放射線腫瘍学会第 55 回生物部会学術大会. 名古屋. 2017 年 6 月 16 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の効果に及ぼす影響. 日本放射線腫瘍学会第 55 回生物部会学術大会. 名古屋. 2017 年 6 月 16 日.

河村香寿美、Qi Fei、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 60 回大会. 千葉. Oct. 26-28. 2017.

### **Poster presentation**

Haitani T, Koyasu S, Kobayashi M, Morinibu A, Harada H. Mechanistic basis for the hypoxia-mediated expression of ATPase Family, AAA Domain Containing 2 (ATAD2). 33rd Int'l Symposium of RBC, Kyoto Univ. Kyoto. Dec. 5, 2017.

Kobayashi M, Morinibu A, Koyasu S, Goto Y, Hiraoka M, Harada H. A Circadian Clock Gene, PER2, Activates HIF-1 as an Effector Molecule for Recruitment of HIF-1 $\alpha$  to Promoter Regions of Its Downstream Genes. 33rd Int'l Symposium of RBC, Kyoto Univ. Kyoto. Dec. 5, 2017.

Koyasu S, Morinibu A, Menju T, Horita S, Hammond EM, Harada H. HPF-4 functionally and mechanistically links p53-deficiency to HIF-1 and increases invasiveness of cancer cells. 33rd Int'l Symposium of RBC, Kyoto Univ. Kyoto. Dec. 5, 2017.

Suwa T, Kobayashi M, Nakashima R, Morinibu A, Harada H. Genetic screening for novel upstream suppressors of HIF-1. 33rd Int'l Symposium of RBC, Kyoto Univ. Kyoto. Dec. 5, 2017.

小林稔、森嶋章代、子安翔、後藤容子、平岡真寛、原田浩. A circadian clock gene, PER2, activates HIF-1 as an effector molecule for recruitment of HIF-1alpha to promoter regions of its downstream genes. 第15回がんとハイポキシア研究会. 淡路島. 2017年11月10日.

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、Ester M Hammond、原田浩. UCHL1-HIF-1 axis-mediated antioxidant property of cancer cells as a therapeutic target for radiosensitization. 第15回がんとハイポキシア研究会. 淡路島. 2017年11月10日.

Kobayashi M, Harada H. A circadian clock gene, PER2, activates HIF-1 as an effector molecule for recruitment of HIF-1alpha to promoter regions of its downstream genes. 第76回日本癌学会学術総会. 横浜. 2017年9月29日.

Koyasu S, Harada H. がん細胞の浸潤転移にかかわる新規 HIF-1 活性化因子 HPF-4 について. 第76回日本癌学会学術総会. 横浜. 2017年9月29日.

斎藤裕一朗、井原誠、小林純也、小松賢志. RIF1による相同組換え抑制機構. 日本放射線影響学会第60回大会. 千葉. Oct. 26-28. 2017

Qi Fei、河村香寿美、今井啓雄、平井啓久、小林純也. 霊長類細胞を用いた DNA 損傷応答の多様性の解析. 日本放射線影響学会第60回大会. 千葉. Oct. 26-28. 2017.

河村香寿美、Qi Fei、Meng Qingmei、林幾江、小林純也. nucleolinによるDNA複製ストレス応答の制御. 2017年度生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017). 神戸. 2017年12月6-9日.

河村香寿美、Qi Fei、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. 2017年度生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017). 神戸. 2017年12月6-9日.

Kawamura K, Qi F, Komatsu K, Kobayashi J. MRE11 mutation identified in Japanese AT-LD patient causes abnormal ATR activity. 33rd International Symposium of RBC. Kyoto. Dec 4 - Dec 5, 2017.

Kawamura K, Qi F, Meng Q, Matsuura S, Komatsu K, Kobayashi J.  
Radiation-hypersensitive genetic disorder: AT-LD and roles of responsible gene,  
MRE11. International Meeting on RECQ Helicases and Related Diseases 2018.  
Kisarazu. Feb. 16, 2018.

## 受賞

中島良太、後藤容子、子安翔、小林稔、森嶋章代、吉村通央、平岡眞寛、HAMMOND  
EM、原田浩。最優秀演題賞。第23回国際癌治療増感研究会学術大会。2017年7  
月15日。

## 突然変異研究部門

### Original article

Wakida T., Ikura M., Kuriya K., Ito S., Shiroywa Y., Habu T., Kawamoto T., Okumura  
T., Ikura T., and \*Furuya K., The CDK-PLK1 axis targets the DNA damage checkpoint  
sensor protein RAD9 to promote cell proliferation and tolerance to genotoxic stresses.,  
eLIFE, (2017) 6: e29953. (京都新聞12月20日朝刊掲載、関西テレビ「みんなのニ  
ュース」12月19日放送)

Fukuto A, Ikura M, Ikura T, Sun J, Horikoshi Y, Shima H, Igarashi K, Kusakabe M,  
Harata M, Horikoshi N, Kurumizaka H, Kiuchi Y, Tashiro S. SUMO modification  
system facilitates the exchange of histone variant H2A.Z-2 at DNA damage sites.  
Nucleus. (2018) 9: 87-94.

### Original article

井倉 毅、古谷寛治、田代聡、井倉正枝「ヒストンH2AXの交換反応を介した損  
傷クロマチンダイナミクス」新学術領域「クロマチン動構造」第5回班会議 平  
成29年7月13日-15日 北海道

井倉 毅「Current knowledge on histone dynamics in DNA damage response」  
平成29年度 医学・生命科学セミナー (熊本大学) 平成29年8月23日、熊本

Kanji FURUYA, Masae IKURA, Tsuyoshi IKURA:“CDK-PLK1 axis targets DNA  
checkpoint sensor protein RAD9, promoting tolerance to genotoxic stress and cell  
proliferation.”, 33rd International Symposium of Radiation Biology Center, Kyoto  
University, “Cutting Edge of Radiation and Cancer Biology”4th-5th December, 2017  
(Kyoto COOP-IN)

古谷寛治、井倉正枝、井倉毅「ゲノム損傷ストレス下での細胞増殖を保障する  
CDK-PLK1 経路による DNA 損傷シグナリングの調節」第35回 染色体ワーク

ショップ・第16回 核ダイナミクス研究会 合同開催、2017年12月20-22日、（グリーンホテル三ヶ根（愛知県西尾市））

井倉 正枝、福戸 敦彦、古谷 寛治、井倉 毅「ゲノム損傷ストレスにおけるTIP60ヒストンアセチル化酵素とポリADP-リボシル化酵素PARP-1の連携機構の役割」日本放射線影響学会 第60回大会 2017年10月25日-28日千葉市

古谷 寛治、井倉 正枝、井倉 毅 「ゲノム損傷ストレス下での細胞増殖を保障するCDK-PLK1経路によるDNA損傷シグナリングの調節」日本放射線影響学会 第60回大会 2017年10月25日-28日千葉市

井倉 毅、白木 琢磨、古谷 寛治、井倉 正枝「ゲノムストレス応答における機能的蛋白質複合体フラクチュエーション」生命科学系学会合同年次大会 ConBio 2017, 2017年12月7日 神戸市ワークショップ：必然から偶然に向かう生物学の新潮流（オーガナイザー：井倉 毅、白木 琢磨）

### Poster presentation

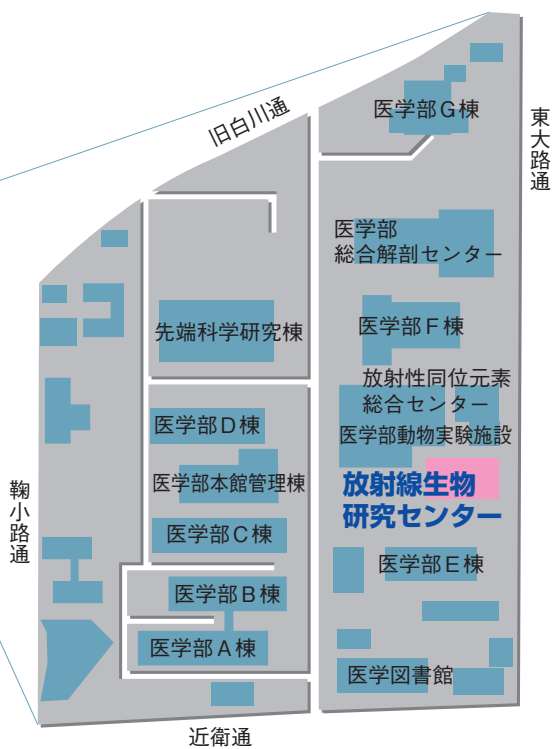
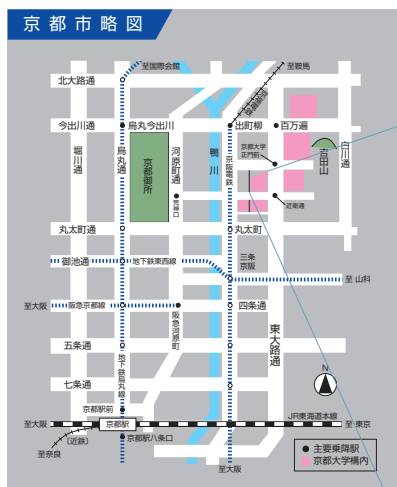
Jiying SUN, Masahiko HARATA, Aiko KINOMURA, Tsuyoshi IKURA, Satoshi TASHIRO 「INO80 chromatin remodeling complex prevents 11q23 chromosomal translocations」日本放射線影響学会 第60回大会 2017年10月25日-28日千葉市

Tomohiko HARA, Yusuke SHIMA, Yuzo WATANABE, Masae IKURA, Tsuyoshi IKURA, Fuyuki ISHIKAWA 「CST complex, telomeric ssDNA-binding proteins, is associated with Nucleotide Excision Repair in whole genome」 The 33rd International Symposium of Radiation Biology Center “Cutting Edge of Radiation and Cancer biology” Dec 4-5, 2017

Jiying SUN, Masahiko HARATA, Tsuyoshi IKURA, Roland KANAAR, Satoshi TASHIRO 「ATM regulates phosphorylation of ARP8 to repress the loading of INO80 and RAD51 to chromosome translocation breakpoint hotspots」 The 33rd International Symposium of Radiation Biology Center “Cutting Edge of Radiation and Cancer biology” Dec 4-5, 2017

古谷 寛治、井倉 正枝、井倉 毅「ゲノム損傷ストレス下での細胞増殖を保障する CDK-PLK1経路による DNA損傷シグナリングの調節」生命科学系学会合同年次大会 ConBio 2017, 2017年12月6日 神戸市

孫 継英、原田 昌彦、木野村 愛子、井倉 毅、田代 聡「11q23染色体転座形成における INO80クロマチン転換複合体の関与」生命科学系学会合同年次大会 ConBio 2017, 2017年12月8日 神戸市



**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/>