

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 26 日現在

機関番号：12608

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H04334

研究課題名(和文) DNA二重鎖切断の認識と修復及び細胞応答統御におけるDNA-PKの機能と存在意義

研究課題名(英文) Biological Significance of DNA-PK in the Orchestration of Cellular Response to DNA Double-strand Breaks

研究代表者

松本 義久 (Matsumoto, Yoshihisa)

東京工業大学・科学技術創成研究院・教授

研究者番号：20302672

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、DNA二重鎖切断(DSB)のセンサーであるDNA依存性プロテインキナーゼ(DNA-PK)の機能と存在意義を明らかにすることを目的として行った。本研究では、DNA-PKによるリン酸化がXRCC4の機能、構造に与える影響の一端を明らかにした。また、XRCC4の結合分子PNKPとAPTXに関して、DNA修復機能やDNA損傷部位への動員機構を明らかにした。さらに、XRCC4の小頭症、発育不全を呈する患者に見られる変異、がんリスクとの相関が報告されているバリエーションにおいてDNA修復機能が低下していることなどを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

放射線によって生じるさまざまなDNA損傷の中で、DNA二重鎖切断(DSB)は最も重篤な損傷で、がんの治療効果や副作用の鍵を握ると考えられている。DNA-PKはDSBのセンサーとして働き、DNA修復をはじめとする種々の細胞応答を引き起こすために重要と考えられる。本研究は、DSBの結合を制御するXRCC4に注目し、これまで長年の研究にも関わらず明らかになっていなかったDNA-PKのDSB修復における機能や存在意義の一端を明らかにした。本研究の成果は、放射線感受性の予測や制御を通じてがん放射線治療のさらなる向上につながる可能性が期待される。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to elucidate the biological meaning of the existence of the DNA double-strand break (DSB) sensor molecule, DNA-dependent protein kinase (DNA-PK). This study clarified the effects of phosphorylation by DNA-PK on the function and structure of XRCC4. It also clarified the DNA repair function and the mechanism of the recruitment to DNA damage of XRCC4 binding molecules, PNKP and APTX. Furthermore, it also revealed the reduction in DNA repair function of XRCC4 mutants observed in the patients of microcephaly and growth defect and XRCC4 variant reportedly associated with increased cancer risk. These outcomes of this research might contribute to the improvement of cancer radiotherapy through the prediction and modification of radiosensitivity.

研究分野：放射線生物学・医学

キーワード：DNA依存性プロテインキナーゼ(DNA-PK) 放射線 DNA修復 DNA損傷応答 タンパク質リン酸化 タンパク質間相互作用 タンパク質構造解析 がん放射線治療

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 1. 研究開始当初の背景

DNA-PK は、二本鎖 DNA の末端に結合して活性化するというユニークな性質を持つタンパク質リン酸化酵素であり、DSB の「センサー」と考えられる。DNA-PK は、触媒サブユニット DNA-PKcs と、Ku70-Ku86 (または Ku80) ヘテロダイマー (以下、Ku) から構成される。1994 年に Ku86 が電離放射線高感受性および V(D)J 組換え機能異常を呈するげっ歯類細胞群で欠損している XRCC5 遺伝子であることが明らかになり [1,2]、続いて 1995 年に DNA-PKcs が同様な表現型を示す重症複合免疫不全 (scid) マウスなどで欠損していることが明らかになった [3,4]。また、XRCC4 遺伝子の同定 [5] および XRCC4 と DNA ligase IV (LIG4) との結合の発見 [6,7] により、DNA-PK、XRCC4-LIG4 が協同して、放射線等によって誘発された、あるいは、V(D)J 組換えの過程で RAG1-RAG2 によって作られた DSB の修復・結合に関わることが明らかになった。この DSB 修復・結合過程は非相同末端結合 (NHEJ) と呼ばれ、相同組換え (HR) とともに、真核生物における主要な DSB 修復機構であることが明らかになった。しかし、DNA-PK が DSB 修復過程において、どのタンパク質を、何のためにリン酸化するかは 20 年以上を経ても未解明のままであり、DNA 修復分野におけるミッシング・リンクとなっていた。

代表者はこの課題の解明に取り組んでおり、XRCC4 が放射線照射後に DNA-PK によるリン酸化を受けることを初めて示した [8]。その後、海外の 2 つのグループが、質量分析法を用いて DNA-PK による XRCC4 のリン酸化部位として 2 カ所を同定したが [9,10]、代表者らは独自に 4 カ所のリン酸化部位を同定した。代表者らはこれら 6 カ所のリン酸化部位の全てに対応するリン酸化状態特異的抗体を作製し、うち 5 カ所が実際に細胞内でリン酸化され、リン酸化が放射線照射によって亢進することを明らかにした [11,12,投稿準備中]。また、酵母からヒトに至るさまざまな生物の XRCC4 アミノ酸配列の比較解析を行ったところ、最も C 末端に位置する 18 アミノ酸の領域が脊椎動物に固有でかつ高度に保存されていることを明らかにし、この領域を XECT (XRCC4 extremely C-terminal) 領域と名付けた [13]。NHEJ に関わるタンパク質群の中で Ku、LIG4、XRCC4 は酵母からヒトまで保存されているが、DNA-PKcs はほぼ脊椎動物に存在が限定される。このことから、XECT 領域は DNA-PKcs による DSB 結合過程制御のために、脊椎動物とともに進化上同時に出現したものではないかと推察した。

一方で、DNA-PK が XRCC4 をリン酸化するためだけに存在するとは極めて考えにくい。NHEJ に関わる分子の中でも、DNA-PKcs 自身、Ku70、Ku86、XLF、PAXX、Artemis などがリン酸化を受ける。しかし、リン酸化部位の多くは試験管内の反応で見出されたものであり、細胞内において DSB に応答してリン酸化を受けるか、また、NHEJ による DSB 修復においてどのような意義を持つかについては不明の部分が多い。DSB 修復反応に直接関わる分子群のみならず、修復の足場となるクロマチンの構造制御や転写・複製などの協調における DNA-PK の機能を探る必要がある。さらに、2014 年には、DNA-PK が Golgi phosphoprotein 3 (GOLPH3) をリン酸化し、ゴルジ体の断片化と分散を促すことが報告された [14]。このように、ゲノム DSB の損傷に応答して、オルガネラの構造や機能を変化させるさまざまな機構の存在も考えられる。このような DSB に対する未知の応答やその意義、DNA-PK の関わりを明らかにするためには、体系的、網羅的な基質探索が必要であると考えた。

参考文献(筆頭著者 掲載誌 巻: 最初頁, 発行年. 下線は代表者らによるもの)

- [1] Taccioli *Science* 265: 1442, 1994. [2] Smider *Science* 266: 288, 1994. [3] Kirchgessner *Science* 267: 1178, 1995. [4] Blunt *Cell* 80: 813, 1995. [5] Li *Cell* 83: 1079, 1995. [6] Critchlow *Curr Biol* 7: 588, 1998. [7] Grawunder *Nature* 388: 492, 1998. [8] Matsumoto *FEBS Lett* 478: 67, 2000. [9] Yu *DNA Repair* 2: 1239, 2003. [10] Lee *DNA Repair* 3: 267, 2003. [11] Sharma *J Radiat Res* 57: 115, 2016. [12] Amiri Moghani *J Radiat Res* 59: 700, 2018. [13] Wanotayan *Biochem Biophys Res Commun* 457: 526, 2015. [14] Farber-Katz *Cell* 156: 413, 2014.

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、DNA 二重鎖切断 (DSB) のセンサーである DNA 依存性プロテインキナーゼ (DNA-PK) の機能と存在意義を明らかにすることである。まず、非相同末端結合 (NHEJ) による DSB 修復において DNA-PK の重要な基質と考えられ、これまでにリン酸化部位を同定、解析してきた XRCC4 タンパク質について、リン酸化部位と、脊椎動物に固有かつ高度に保存された XECT (XRCC4 extremely C-terminal) 領域の機能を探る。具体的には、結合分子の探索やその機能解析、構造解析、損傷部位への動員機構解析、cell-free 系および in cellulo 系での DSB 修復解析を通じて、NHEJ における DNA-PK の機能とその意義を明らかにする。また、二次元電気泳動法と AI を組み合わせた新しいプロテオミクス手法を用いて、新規基質、リン酸化部位の体系的・網羅的探索を行う。これにより、DSB 修復反応に直接関わる分子群のみならず、DSB に対する未知の応答やその意義、DNA-PK の役割を明らかにする。

## 3. 研究の方法

XRCC4 および結合分子の変異体の作製：XRCC4 において、DNA-PK によるリン酸化を受けるセリンまたはスレオニンのアラニンあるいはアスパラギン酸に置換した変異体を構築した。合わせて、2014 年から 2015 年にかけて報告された小頭症、発育不全を呈する遺伝病患者に見られる XRCC4 変異 6 種類、がんリスクとの相関が報告されているバリエーションを模倣した変異体の発現ベクターを構築した。これらの変異体には FLAG、6XHis、GFP などのタグを付加し、目的に応じて使い分けた。これらのベクターをマウス白血球由来 M10 細胞(XRCC4 欠損)、ヒト骨肉腫由来 U2OS 細胞、ヒト腎細胞由来 HEK293 細胞などに発現させ、DNA 修復能に関する種々の解析を行った。また、大腸菌に導入して、タンパク質の発現・精製を行なった。結合分子であるポリヌクレオチドキナーゼホスファターゼ(PNKP)、アプラタキシン(APTX)についても同様に変異体を作製した。

XRCC4 および結合分子の遺伝子ノックアウト細胞の樹立：CRISPR/Cas9 系を用いたゲノム編集技術により、ヒト骨肉腫由来 U2OS 細胞から XRCC4 および結合分子である PNKP、APTX の遺伝子ノックアウト細胞を作製した。

DNA 修復機能解析： で作製した遺伝子ノックアウト細胞、あるいはこれに で作製した正常型あるいは変異型の XRCC4、PNKP、APTX を導入した細胞について、以下の解析を行うことで、DNA 修復機能を検討した。(1)コロニー形成法により、放射線照射、DNA 損傷誘発剤処理後の細胞生存率を調べた。(2)  $\gamma$ -H2AX、53BP1 蛍光免疫染色を行うことにより、放射線照射、DNA 損傷誘発剤処理後の DSB 修復のカイネティクスを調べた。(3)制限酵素 I-SceI による切断部位を染色体上に有するレポーター基質を用いて、非相同末端結合(NHEJ)、相同組換え(HR)能を測定した。(4)哺乳動物用 EGFP 発現プラスミドを種々の制限酵素で処理することによって、5'突出、平滑、3'突出の末端形状を持つ基質プラスミドを調製し、XRCC4 遺伝子ノックアウト細胞に導入後、フローサイトメータで GFP 陽性細胞の割合を計測することで、DNA 結合能を調べた。

XRCC4 にリン酸化依存的に結合する分子の探索：GFP タグを付加した正常 XRCC4 と 4 カ所のリン酸化部位を欠失する XRCC4 を HEK293 細胞に発現させ、GFP 抗体ビーズを用いた免疫沈降を行った。沈降物を SDS-PAGE で展開し、両者で違いのあるバンドを確認するとともに、質量分析、PMF (peptide mass fingerprinting)解析を行うことにより、タンパク質同定を試みた。

リン酸化がタンパク質高次構造に与える影響の解析：DNA-PK によるリン酸化を受けるセリン、スレオニンのアスパラギン酸に置換した変異体 XRCC4 を大腸菌で発現させ、精製した後、以下の解析を行った。(1)放射光円二色性(CD)スペクトルによる二次構造解析を行った。(2)X 線小角散乱 (SAXS) を用いて、XRCC4 の多量体、フィラメント構造形成のダイナミクスに対するリン酸化の影響を解析した。

DSB 修復タンパク質の動員機構の解析 (細胞内局所レーザー照射法によるライブセルイメージング解析)：蛍光タンパク質との融合タンパク質の発現ベクターを細胞に導入し、レーザー共焦点顕微鏡を用いて局所的に DNA 損傷を誘発し、照射領域への蛍光タンパク質の集積のカイネティクスを解析する。

新たなプロテオミクス手法による新規基質の探索：研究分担者の林によって開発されたコンパクト化二次元電気泳動法と AI による解析を組み合わせたハイスループットの新たなプロテオミクス手法を用いて、放射線照射前後でのスポットの変化を解析し、DNA-PK の新規リン酸化基質の探索を試みた。

#### 4. 研究成果

##### 【1】DNA-PK による XRCC4 のリン酸化の意義

上記のように、これまで DNA-PK による XRCC4 のリン酸化部位として 6 カ所の解析を進めてきた。これまでの結果から、6 カ所のうち 5 カ所が放射線実際に細胞内でリン酸化され、リン酸化が放射線照射によって亢進すること、うち 4 カ所のリン酸化部位のいずれかをアラニンに置換した変異体を発現する細胞では放射線感受性の回復が部分的であり、これらの部位におけるリン酸化が DSB 修復において重要であることが示唆されていた。

ヒト U2OS 細胞からゲノム編集技術を用いて XRCC4 欠損細胞を樹立した。これに XRCC4 のリン酸化部位欠損変異体を導入することで、DSB 修復に関する種々の機能解析を試みた。その一つとして、*in vitro* で種々の制限酵素で切断した GFP 発現ベクターを細胞に導入し、蛍光を指標として DSB 結合能を測定する新たな系を確立した。その結果、変異によって DSB 結合能が減少するものと増加するものが見出され、DSB 結合を促進するリン酸化部位と抑制するリン酸化部位が存在することが示唆された。

また、正常 XRCC4 及びリン酸化を受けるセリンをアスパラギン酸に置換したリン酸化擬似変異体(S260D、S327D)の二量体及び多量体について 円二色性スペクトル測定及び X 線小角散乱測定を行った。その結果、リン酸化が ストランド量を増加させ、フィラメント状の会合体形成の調節に関わることが示唆された(Nishikubo et al., *Int. J. Radiat. Biol.*, 2023)。

さらに、GFP プルダウンと質量分析により、正常 XRCC4 と 6 カ所のリン酸化部位のうち 4 カ所を欠損する変異体 XRCC4 に結合する分子を同定した。DNA-PKcs、Ku86、Ku70、LIG4、XLF など、XRCC4 とともに非相同末端結合(NHEJ)に関わるタンパク質群は正常 XRCC4 と変異体の両者でほぼ等量検出された。一方、全長に比べて欠失変異体で著しく少ないタンパク質が数種類見つかった。その結果から、DNA-PK による XRCC4 のリン酸化が他の DNA 損傷応答経路との

クロストークに関わる可能性が示唆された。

## 【2】XRCC4 結合分子の DSB 修復機能と DNA 損傷部位への動員機構の解析

XRCC4 の結合分子として、DNA 末端のリン酸基の付加・除去を行う PNKP およびアデニル基の除去を行う APTX に関して解析を行った。

PNKP については、まず、リンカー領域に存在する Lys138 が核局在に必要であることと、FHA ドメインに存在する Arg35 が核内分画への局在に必要であることを明らかにした(Tsukada et al., PLoS One, 2020)。次に、レーザー照射部位への集積を指標として、FHA ドメインが PNKP の DNA 損傷部位への動員に必要であることを明らかにした(Tsukada et al., Mutat. Res. Fundament. Mol. Mech. Mutagen. 2020)。また、PNKP の DNA 損傷部位への動員に XRCC1、XRCC4、DNA-PK、ATM、CK2 が関与すること、CK2 による XRCC1 のリン酸化部位 Thr519 と XRCC4 のリン酸化部位 Thr233 が重要であることを明らかにした。さらに解析を進め、PNKP の Thr118 が CDK によるリン酸化を受け、これが DNA 複製過程における岡崎フラグメントのプロセッシングに重要であることを明らかにした(Tsukada et al., BioRxiv, 2021)。

APTX については、ゲノム編集によって欠損細胞を作製し、放射線・薬剤感受性、DSB 修復能などを解析した(Imamura et al., J. Radiat. Res., 2023)。APTX<sup>-/-</sup>細胞は正常細胞に比べて高い線、camptothecin 感受性を示した。5 Gy の線照射 4 時間後に DSB のマーカーである -H2AX と 53BP1 の免疫染色を行ったところ、-H2AX のフォーカスは APTX<sup>-/-</sup>細胞で正常細胞に比べて増加が見られたのに対し、53BP1 は有意差が認められなかった。一方、siRNA により XRCC4 をノックダウンした場合には -H2AX、53BP1 とも増加が認められた。また、GFP-APTX 発現細胞でレーザー照射部位への集積を指標として DNA 損傷部位への動員を解析した結果、XRCC1 は必要であるが、XRCC4 は不要であることが分かった。さらに、GFP レポーター基質と I-SceI を用いた NHEJ 能を計測した結果、APTX<sup>-/-</sup>細胞、XRCC4 ノックダウン細胞で低下が認められ、APTX<sup>-/-</sup>細胞で XRCC4 をノックダウンすると相加的な効果が認められた。以上の結果を総合して、APTX が XRCC4 とは異なる機構で DNA 二重鎖切断修復に関与することを明らかにした。

【3】XRCC4 の小頭症、発育不全を呈する患者に見られる変異、がんリスクとの相関が報告されているバリエーションの DNA 修復機能解析

小頭症、発育不全を呈する患者に見られる 6 種類の変異 XRCC4 を XRCC4 欠損細胞に導入し、コロニー形成法によって放射線感受性を調べたところ、いずれも空ベクター導入細胞よりも放射線抵抗性を示したが、正常 XRCC4 を導入した細胞よりも放射線感受性であった(Asa et al., J. Radiat. Res. 2021)。一部の变異 XRCC4 は核よりも細胞質への局在が見られた。これらのことから、上記の遺伝病患者では XRCC4 の DSB 修復機能が低下していると考えられた。また、がんリスクとの相関が報告されているバリエーションについては、放射線感受性の上昇、-H2AX を指標とした残存 DSB の増加に加え、レーザー照射部位への集積を指標とした DNA 損傷部位への集積の減弱が認められた。このような DSB 修復機能の低下が、がんリスクと関係する可能性が示唆された(投稿準備中)。

## 【4】新たなプロテオミクス手法による新規基質の探索

二次元電気泳動と AI 解析を組み合わせた新たなプロテオミクスの手法により、放射線照射に応答して現れるスポットを数十個見出し、一部のタンパク質を質量分析によって同定した。今後、DNA-PK の新規基質探索の新しいアプローチとして期待される。

## 【5】線量率効果における DNA-PKcs、Ku の役割

DNA-PK の DSB への結合を担う Ku70 あるいは Ku86 遺伝子欠損細胞が低線量率放射線に対して同じ線量の高線量率放射線と同等あるいはより高い感受性を示す、すなわち線量率効果が減弱あるいは逆転することを示した(Tsuchiya et al., J. Radiat. Res. 2021)。一方、DNA-PKcs 欠損細胞は同じ線量の高線量率放射線に対して低線量率放射線より高い感受性を示した。この結果から、線量率効果において Ku が重要な役割を担うことが明らかになった。また、細胞周期の解析の結果から、Ku70 あるいは Ku86 欠損細胞は、低線量率放射線照射中に G2/M チェックポイントが強く働いて放射線感受性が高い G2/M 期に蓄積することが明らかになった。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計17件（うち査読付論文 14件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 11件）

1. 著者名 Nishikubo Kai、Hasegawa Maho、Izumi Yudai、Fujii Kentaro、Matsuo Koichi、Matsumoto Yoshihisa、Yokoya Akinari	4. 巻 -
2. 論文標題 Structural study of wild-type and phospho-mimic XRCC4 dimer and multimer proteins using circular dichroism spectroscopy	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 International Journal of Radiation Biology	6. 最初と最後の頁 1~8
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/09553002.2023.2214210	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Imamura Rikiya、Saito Mizuki、Shimada Mikio、Kobayashi Junya、Ishiai Masamichi、Matsumoto Yoshihisa	4. 巻 64
2. 論文標題 APTX acts in DNA double-strand break repair in a manner distinct from XRCC4	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Radiation Research	6. 最初と最後の頁 485~495
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/jrr/rrad007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Shimada Mikio、Tokuniya Takumi、Miyake Tomoko、Tsukada Kaima、Kanzaki Norie、Yanagihara Hiromi、Kobayashi Junya、Matsumoto Yoshihisa	4. 巻 64
2. 論文標題 Implication of E3 ligase RAD18 in UV-induced mutagenesis in human induced pluripotent stem cells and neuronal progenitor cells	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Radiation Research	6. 最初と最後の頁 345~351
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/jrr/rrac099	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Tsuchiya Hisayo、Shimada Mikio、Tsukada Kaima、Meng Qingmei、Kobayashi Junya、Matsumoto Yoshihisa	4. 巻 198
2. 論文標題 THE ROLE OF DNA DOUBLE-STRAND BREAK REPAIR THROUGH NON-HOMOLOGOUS END JOINING IN THE DOSE-RATE EFFECT IN TERMS OF CLONOGENIC ABILITY	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Radiation Protection Dosimetry	6. 最初と最後の頁 990~997
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/rpd/ncac030	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsumoto Yoshihisa	4. 巻 23
2. 論文標題 Development and Evolution of DNA-Dependent Protein Kinase Inhibitors toward Cancer Therapy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 4264 ~ 4264
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms23084264	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 長谷川真保、西久保開、藤原悟、松尾龍人、松本義久、横谷明德	4. 巻 38
2. 論文標題 DNA 修復タンパク質 XRCC4 及びその変異体タンパク質の SAXS 構造解析	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Photon Factory Activity Report 2020	6. 最初と最後の頁 2021-2024
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tsukada Kaima, Imamura Rikiya, Saikawa Kotaro, Saito Mizuki, Kase Naoya, Miyake Tomoko, Ishiai Masamichi, Matsumoto Yoshihisa, Shimada Mikio	4. 巻 -
2. 論文標題 Phosphorylation of PNKP mediated by CDKs promotes end-processing of Okazaki fragments during DNA replication	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BioRxiv	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1101/2021.07.29.452278	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Miyake Tomoko, Kuge Munekazu, Matsumoto Yoshihisa, Shimada Mikio	4. 巻 56
2. 論文標題 -glucosyl-rutin activates immediate early genes in human induced pluripotent stem cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Stem Cell Research	6. 最初と最後の頁 102511 ~ 102511
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.scr.2021.102511	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Matsumoto Yoshihisa, Asa Anie Day D. C., Modak Chaity, Shimada Mikio	4. 巻 12
2. 論文標題 DNA-Dependent Protein Kinase Catalytic Subunit: The Sensor for DNA Double-Strand Breaks Structurally and Functionally Related to Ataxia Telangiectasia Mutated	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Genes	6. 最初と最後の頁 1143 ~ 1143
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/genes12081143	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Someya Masanori, Tsuchiya Takaaki, Fukushima Yuki, Hasegawa Tomokazu, Hori Masakazu, Kitagawa Mio, Gocho Toshio, Mafune Shoh, Ikeuchi Yutaro, Hirohashi Yoshihiko, Torigoe Toshihiko, Iwasaki Masahiro, Matsuura Motoki, Saito Tsuyoshi, Matsumoto Yoshihisa, Sakata Koh-ichi	4. 巻 54
2. 論文標題 Prediction of treatment response from the microenvironment of tumor immunity in cervical cancer patients treated with chemoradiotherapy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Medical Molecular Morphology	6. 最初と最後の頁 245 ~ 252
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00795-021-00290-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 松本 義久	4. 巻 73
2. 論文標題 放射線によるDNA損傷の修復	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 生体の科学	6. 最初と最後の頁 110-114
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 HASEGAWA TOMOKAZU, SOMEYA MASANORI, HORI MASAKAZU, TSUCHIYA TAKAAKI, FUKUSHIMA YUUKI, MATSUMOTO YOSHIHISA, SAKATA KOH-ICHI	4. 巻 34
2. 論文標題 Prediction of Results of Radiotherapy With Ku70 Expression and an Artificial Neural Network	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 In Vivo	6. 最初と最後の頁 2865 ~ 2872
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/invivo.12114	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tsukada Kaima, Matsumoto Yoshihisa, Shimada Mikio	4. 巻 15
2. 論文標題 Linker region is required for efficient nuclear localization of polynucleotide kinase phosphatase	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0239404
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0239404	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tsukada Kaima, Shimada Mikio, Imamura Rikiya, Saikawa Kotaro, Ishiai Masamichi, Matsumoto Yoshihisa	4. 巻 822
2. 論文標題 The FHA domain of PNKP is essential for its recruitment to DNA damage sites and maintenance of genome stability	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis	6. 最初と最後の頁 111727 ~ 111727
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mrfmmm.2020.111727	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tsuchiya Hisayo, Shimada Mikio, Tsukada Kaima, Meng Qingmei, Kobayashi Junya, Matsumoto Yoshihisa	4. 巻 62
2. 論文標題 Diminished or inversed dose-rate effect on clonogenic ability in Ku-deficient rodent cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Radiation Research	6. 最初と最後の頁 198 ~ 205
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jrr/rraa128	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Asa Anie Day D C, Wanotayan Rujira, Sharma Mukesh Kumar, Tsukada Kaima, Shimada Mikio, Matsumoto Yoshihisa	4. 巻 62
2. 論文標題 Functional analysis of XRCC4 mutations in reported microcephaly and growth defect patients in terms of radiosensitivity	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Radiation Research	6. 最初と最後の頁 380 ~ 389
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jrr/rrab016	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する



1. 著者名 Matsumoto Yoshihisa, Sharma MukeshKumar	4. 巻 11
2. 論文標題 DNA-Dependent protein kinase in DNA damage response: Three decades and beyond	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Radiation and Cancer Research	6. 最初と最後の頁 123 ~ 123
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4103/jrcr.jrcr_60_20	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計35件 (うち招待講演 6件 / うち国際学会 6件)

1. 発表者名 島田 幹男, 塚田 海馬, 今村 力也, 松本 義久
2. 発表標題 DNA 末端リン酸化脱リン酸化酵素PNKP の機能解析と放射線増感効果の検討
3. 学会等名 第60 回日本放射線腫瘍学会生物部会学術大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 松本 義久
2. 発表標題 DNA 二重鎖切断の認識・修復の分子機構から放射線感受性の予測・制御へ
3. 学会等名 第51回放射線による制癌シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Rikiya Imamura, Mizuki Saito, Mikio Shimada, Junya Kobayashi, Masamichi Ishiai, Yoshihisa Matsumoto
2. 発表標題 The Role of APTX in DNA double-strand break repair
3. 学会等名 The 19th Ataxia-Telangiectasia Workshop (ATW2023Kyoto) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 松本 義久
2. 発表標題 DNA損傷と細胞周期
3. 学会等名 第13回放射線生物学セミナー（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Rikiya Imamura, Mizuki Saito, Mikio Shimada, Masamichi Ishiai, Yoshihisa Matsumoto
2. 発表標題 The Functional Analysis of Genetic Disease Factor APTX in DNA Double Strand Break Repair
3. 学会等名 International Symposium on Zero-Carbon Energy Systems（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 村松 麗斗, 塚田 海馬, 西内 巧, 島田 幹男, 松本 義久
2. 発表標題 Analysis of the phosphorylation mechanism of the C-terminus of XRCC4 in DNA double-strand break repair
3. 学会等名 日本原子力学会関東・甲越支部第21回若手研究者・技術者研究討論会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 水戸谷 理沙, 島田 幹男, 松本 義久
2. 発表標題 Study of PLK1 inhibition to improve radiosensitizing effect by inducing mitotic death in radiation cancer therapy
3. 学会等名 日本原子力学会関東・甲越支部第21回若手研究者・技術者研究討論会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 横谷明德、西久保開、長谷川真保
2. 発表標題 Exploring active structures of DNA repair protein XRCC4 using CD and SAXS
3. 学会等名 The 26th HiSOR symposium (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yoshihisa Matsumoto
2. 発表標題 Molecular Radiation Biology on DNA Damage Response for Radiotherapy and Radioprotection in Next Generation
3. 学会等名 5th Asian Congress of Radiation Research (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Rikiya Imamura, Mizuki Saito, Mikio Shimada, Masamichi Ishiai, Yoshihisa Matsumoto
2. 発表標題 Role of genetic disease factor APTX in DNA double strand repair
3. 学会等名 5th Asian Congress of Radiation Research (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松本 義久
2. 発表標題 DNA二重鎖切断の認識・修復の分子機構とがん治療への応用
3. 学会等名 第27回癌治療増感研究会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 今村 力也, 齋藤 瑞樹, 島田 幹男, 石合 正道, 松本 義久
2. 発表標題 遺伝性疾患原因遺伝子APTX のDNA 二本鎖切断修復での役割
3. 学会等名 日本放射線影響学会第65回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Bo Zhang, Mikio Shimada, Yoshihisa Matsumoto
2. 発表標題 An integrated bioinformatic analysis of ZNF384 associated with DNA damage response in colon cancer
3. 学会等名 日本放射線腫瘍学会第59回生物部会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hisayo Tsuchiya, Mikio Shimada, Kaima Tsukada, Qingmei Meng, Junya Kobayashi, Yoshihisa Matsumoto.
2. 発表標題 The role of DNA double-strand break repair through non-homologous end joining in the dose-rate effect in terms of clonogenic ability
3. 学会等名 Institute for Environmental Sciences International Symposium (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 土屋 尚代, 島田 幹男, 塚田 海馬, 孟 慶梅, 小林 純也, 松本 義久.
2. 発表標題 DNA二重鎖修復タンパク質Ku欠損細胞における線量率効果
3. 学会等名 日本放射線腫瘍学会生物部会第58回学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 今村 力也, 齋藤 瑞樹, 島田 幹男, 石合 正道, 松本 義久.
2. 発表標題 遺伝病原因遺伝子 APTX の DNA 損傷応答での役割 (The role of hereditary disease factor APTX in DNA damage response.)
3. 学会等名 令和三年度 第一回 日本放射線影響学会・若手部会 放射線影響研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 齋藤 瑞樹, 今村 力也, 塚田 海馬, 島田 幹男, 松本 義久.
2. 発表標題 XRCC4 欠損細胞を用いた DNA 二本鎖修復効率の解析
3. 学会等名 令和三年度 第一回 日本放射線影響学会・若手部会 放射線影響研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 徳宮 巧実, 島田 幹男, 柳原 啓見, 神崎 訓枝, 三宅 智子, 松本 義久.
2. 発表標題 ヒト iPS 細胞由来組織細胞における放射線誘発突然変異計測系の確立 (Establishment of a radiation-induced mutation measurement system in human iPS cell-derived tissue cell.)
3. 学会等名 令和三年度 第一回 日本放射線影響学会・若手部会 放射線影響研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 島田 幹男, 塚田 海馬, 齊川 昂太郎, 三宅 智子, 平山 亮一, 松本 義久.
2. 発表標題 高LET放射線照射はiPS細胞において多極性細胞分裂を誘導する(High LET radiation induces multipolar cell division in human induced pluripotent stem cells.)
3. 学会等名 日本放射線影響学会第64回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 齋藤 瑞樹, 塚田 海馬, 今村 力也, 島田 幹男, 松本 義久.
2. 発表標題 XRCC4およびDNA-PKによるXRCC4のリン酸化のDNA二本鎖切断修復における役割(Role of XRCC4 and its phosphorylation by DNA-PK in DNA double-strand break repair)
3. 学会等名 日本放射線影響学会第64回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 今村 力也, 齋藤 瑞樹, 島田 幹男, 石合 正道, 松本 義久.
2. 発表標題 遺伝性疾患原因遺伝子APT-XのDNA複製および複製ストレス下での役割(The role of hereditary disease factor APTX in DNA replication and replication stress)
3. 学会等名 日本放射線影響学会第64回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 西久保 開, 長谷川 真保, 泉 雄大, 藤井 健太郎, 松尾 光一, 松本 義久, 横谷 明德.
2. 発表標題 擬似リン酸化によるXRCC4の構造変化(Structural change in XRCC4 mutants mimicking phosphorylation)
3. 学会等名 日本放射線影響学会第64回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 モウダク ティアティー, 塚田 海馬, デイ アニー, 島田 幹男, 松本 義久.
2. 発表標題 XRCC4-like factor (XLF)のヒトリンパ芽球TKにおけるDNA二本鎖切断修復およびV(D)J組換え機能解析(The function of XRCC4-like factor (XLF) in DNA double-strand break repair and V(D)J recombination in human lymphoblastoid TK6)
3. 学会等名 日本放射線影響学会第64回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 塚田 海馬, 今村 力也, 齋藤 瑞樹, 石合 正道, 島田 幹男, 松本 義久.
2. 発表標題 DNA複製中の岡崎フラグメント成熟におけるDNA修復酵素PNKPの役割(The role of polynucleotide kinase phosphatase (PNKP) in Okazaki fragment maturation during DNA replication)
3. 学会等名 日本放射線影響学会第64回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 神元 梨穂, 今村 力也, 島田 幹男, 松本 義久.
2. 発表標題 ヒト細胞におけるアラタキシン(APTX)のDNA損傷応答解析(Function of Aprataxin (APTX) in DNA damage response and repair in human cells)
3. 学会等名 日本放射線影響学会第64回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Enkhbaatar Milai, Yoshihisa Matsumoto, Mikio Shimada, Kaima Tsukada, Tomoko Miyake.
2. 発表標題 Molecular characterization of radiosensitivity and radiation response of liver cancer cells
3. 学会等名 日本放射線影響学会第64回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 徳宮 巧実, 島田 幹男, 柳原 啓見, 神崎 訓枝, 三宅 智子, 松本 義久.
2. 発表標題 iPS細胞由来組織細胞における放射線依存的突然変異計測系の確立(Establishment of a radiation-dependent mutation measurement system for human iPS cell-derived tissue cells)
3. 学会等名 日本放射線影響学会第64回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Matsumoto Y.
2. 発表標題 Basic Mechanisms for DNA Double-strand Break Repair.
3. 学会等名 Second International School on Radiation Research (ISRR-2020) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 塚田 海馬, 今村 力也, 島田 幹男, 石合 正道, 松本 義久.
2. 発表標題 蛍光ライブセルイメージングを用いたDNA修復酵素PNKP制御メカニズム解析.
3. 学会等名 日本放射線影響学会第63回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 今村 力也, 塚田 海馬, 齊川 昂太郎, 島田 幹男, 松本 義久.
2. 発表標題 DNA修復酵素PNKP欠損細胞の樹立とDNA損傷・複製ストレスにおける機能解析.
3. 学会等名 日本放射線影響学会第63回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西久保 開, 長谷川 真保, 泉 雄大, 藤井 健太郎, 松尾 光一, 松本 義久, 横谷 明德.
2. 発表標題 DNA修復タンパク質XRCC4多量体のリン酸化による構造変化.
3. 学会等名 日本放射線影響学会第63回大会
4. 発表年 2020年



1. 発表者名 Milai Enkhbaatar, 三宅 智子, 塚田 海馬, 島田 幹男, 松本 義久.
2. 発表標題 肝臓がんの放射線感受性に関する分子特性.
3. 学会等名 日本放射線影響学会第63回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 島田 幹男, 神崎 訓枝, 柳原 啓見, 三宅 智子, 松本 義久.
2. 発表標題 ヒトiPS細胞由来組織細胞における放射線依存的突然変異頻度解析.
3. 学会等名 日本放射線影響学会第63回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 齋川 昂太郎, 塚田 海馬, 今村 力也, 島田 幹男, 松本 義久.
2. 発表標題 DNA修復酵素PNKPの天然変性領域が担う細胞安定性における役割.
3. 学会等名 日本放射線影響学会第63回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 長谷川 真保, 西久保 開, 藤原 悟, 松尾 龍人, 松本 義久, 横谷 明德.
2. 発表標題 活性化XRCC4のSAXS構造解析とDNA修復.
3. 学会等名 第34回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

東京工業大学 科学技術創成研究院 ゼロカーボンエネルギー研究所 松本研究室 http://www.nr.titech.ac.jp/~yoshim/ 東京工業大学 科学技術創成研究院 先導原子力研究所 松本研究室 http://www.nr.titech.ac.jp/~yoshim/
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	横谷 明德  (Yokoya Akinari)  (10354987)	国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・量子生命科学研究所・専門業務員   (82502)	
研究分担者	島田 幹男  (Shimada Mikio)  (20548557)	東京工業大学・科学技術創成研究院・助教   (12608)	
研究分担者	泉 雄大  (Izumi Yudai)  (20595772)	国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・量子生命科学研究所・主任研究員   (82502)	
研究分担者	松尾 光一  (Matsuo Koichi)  (40403620)	広島大学・放射光科学研究センター・准教授   (15401)	
研究分担者	林 宣宏  (Hayashi Nobuhiro)  (80267955)	東京工業大学・生命理工学院・教授   (12608)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	石合 正道  (Ishiai Masamichi)  (90298844)	国立研究開発法人国立がん研究センター・研究所・施設長    (82606)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	藤井 健太郎  (Fujii Kentaro)  (00360404)	国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・量子生命科学研究所・チームリーダー    (82502)	
研究協力者	塚田 海馬  (Tsukada Kaima)	日本学術振興会・海外特別研究員	
研究協力者	西久保 開  (Nishikubo Kai)	茨城大学・理工学研究科・大学院生（博士）    (12101)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
インド	SPC Government College			
タイ	Mahidol University			