

令和 6 年 6 月 3 日現在

機関番号：82606

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K12252

研究課題名(和文)放射線およびUVばく露によるゲノム不安定性リスクに対する影響の研究

研究課題名(英文)Study of genomic instability risk arisen by UV and ionizing radiation

研究代表者

吉岡 研一 (Yoshioka, Ken-ichi)

国立研究開発法人国立がん研究センター・研究所・ユニット長

研究者番号：70321916

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：紫外線は、主に、CPDおよび6-4PPsと呼ばれる2種類の光産物をしょうじ、さらに、ゲノム不安定性を伴う皮膚がんのリスク要因となる。しかし、どの様にこれらの光産物がゲノム不安定性を生じているのかは不明であった。同様に、電離放射線のばく露でも、複数のタイプのDNA損傷が生じるが、どの損傷がどの様にゲノム不安定性のリスク上昇に関わっているのかは不明であった。本研究では、ゲノム不安定性のリスク上昇に関わるDNA損傷を明確にすることを目指した。その結果、どちらの場合でもDNA複製ストレスに伴うDSBが蓄積し、これに起因してゲノム不安定性が現れることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

放射線や紫外線のばく露は、ゲノム不安定性を伴うがんのリスク要因となることが知られている。しかし、これらの外的ストレスによって生じた様々なタイプのDNA損傷のなかで、どのタイプの損傷が、どの様にゲノム不安定性の誘導に関わるのかは不明であった。本研究からは、放射線および紫外線で生じるDNA損傷とゲノム不安定性誘導の関係、特に、その作用点が明確になってきた。

研究成果の概要(英文)：Ultra Violet (UV) light, primarily inducing cyclobutane pyrimidine dimers (CPDs) and pyrimidine-pyrimidone (6-4) photoproducts (6-4PPs), risks skin cancer with genomic instability. However, it is still unclear how the photoproducts are associated with genomic instability. Similarly, ionizing radiation could also cause multiple types of DNA damages, it is not clear which of those are responsible. Here we studied that replication stress-associated DNA double strand breaks (DSBs) risking genomic instability are those mechanistic backgrounds. We observed that both UV and ionizing radiation are associated with DNA replication stress and hence risking genomic instability. Resulting cells are subjected to the clonal evolution of cells mutated in the ARF/p53 pathway.

研究分野：DNA修復

キーワード：ゲノム不安定性 放射線 紫外線 DNA損傷

1. 研究開始当初の背景

紫外線は、主に、CPD (cyclobutane pyrimidine dimers) および 6-4PPs (pyrimidine-pyrimidone (6-4) photoproducts) の 2 種類の光産物を生じ、さらに、ゲノム不安定性を伴う皮膚がんのリスク要因となる。しかし、CPD と 6-4PPs の 2 種類の光産物のうち、どちらがどの様にゲノム不安定性の誘導に関わるのかは不明であった。同様に、電離放射線のばく露でも、複数のタイプの DNA 損傷が生じ、がんとゲノム不安定性のリスク要因となるが、どの損傷がどの様にゲノム不安定性のリスク上昇に関わっているのかは不明であった。

2. 研究の目的

本研究では、紫外線および電離放射線のばく露によって生じる複数のタイプの DNA 損傷の中で、どのタイプの DNA 損傷が、どの様にゲノム不安定性のリスク上昇に関わるのか、そのメカニズムを明確にすることを目的とした。

3. 研究の方法

ゲノム不安定性とこれに伴うクローン進化に関わる解析は、マウス胚線維芽細胞 (MEF) のモデル (ゲノム不安定性に起因して ARF/p53 変異 MEF のクローン進化に至る) を用いた。DNA 損傷やゲノム不安定性の高リスク状態の特定のためには、損傷やクロマチン状態を示す各特異抗体を用い、蛍光顕微鏡解析によって解析した。また、高リスク状態の誘導の責任因子と、その誘導メカニズムを明確にするために、責任因子のノックダウンや阻害剤を組み合わせ、その DNA 損傷 (ガンマ H2AX や 53BP1 のフォーカス形成を指標として) や様々なクロマチン修飾 (ヒストン H3 のアセチル化やメチル化のマーカを指標として) などに与える影響を解析した。高リスク状態誘導の責任因子の解析は、MCF7 と A549 細胞株を用いて実施した。さらに、ゲノム不安定性の高リスクのクロマチン状態と、その領域を明確にするため、ChIP-seq 解析も実施した。

電離放射線はガンマ線 (0.5-2 Gy) の照射装置 (^{137}Cs) を用いて照射し、紫外線照射は UV-C (2-8 J/m²) を照射し、その影響を解析した。

4. 研究成果

本研究からは、放射線と紫外線にばく露後は様々なタイプの DNA 損傷が生じるが、どちらの場合でも、DNA 複製ストレスに伴う DSB (そのリスク要因の DNA 損傷は放射線と紫外線で異なる) に起因し、ゲノム不安定性が誘導されることが示された。これは、通常の老化過程でリスク上昇する場合と同じである。結果的に、放射線と紫外線もよる外的な損傷は、DNA 複製ストレスに伴う DSB の蓄積とこれに伴うゲノム不安定性に対する促進要因となっていた。MEF のモデルでは、その結果、不死化細胞のクローン進化誘導も促進した。

放射線ばく露では様々なタイプの DNA 損傷が生じるが、修復され難い DSB は DNA 複製ストレスに伴って現れ、これがゲノム不安定性のリスク要因となっていることが示された。この複製ストレスに伴う DSB は、放射線で直接に現れる DSB が修復された後に、次の DNA 合成期 (S 期) に現れた。また、この過程では、ゲノム不安定性の高リスク状態を現すクロマチン状態が誘導されることが明確になり、そのクロマチン状態変化に関わる責任因子も示された。

一方、紫外線照射では、6-4PPs は H2AX フォーカス形成を伴うため、細胞周期の停止を伴い、その間に 6-4PPs 修復が速進することが示された。これに対し、CPD 自体では H2AX 発現を伴わないことが示された。このため、CPD は修復スピードも遅く、その存在下でも細胞周期が進行し、DNA 合成が開始される (S 期に入る) ことが示された。この CPD 存在下での DNA 複製に起因して DNA 複製ストレスに伴う DSB が誘導され、これがゲノム不安定性要因となることが示された。さらに、この CPD に伴う複製ストレスのリスクに対しては、生じた CPD の中の一部だけが

ゲノム不安定性リスクに関わることが示された。特に、この CPD に伴うリスクは、転写共役修復 (TCR) の終了に伴って抑制されており、非転写領域の CPD はこのリスクには無関係なことが示された。

以上、本研究からは、放射線および紫外線で生じる DNA 損傷とゲノム不安定性誘導の関係、特に、その作用点が明確になってきた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Suzuki Mafuka, Fujimori Haruka, Wakatsuki Kakeru, Manaka Yuya, Asai Haruka, Hyodo Mai, Matsuno Yusuke, Kusumoto-Matsuo Rika, Shiroishi Mitsunori, Yoshioka Ken-ichi	4. 巻 18
2. 論文標題 Genome destabilization-associated phenotypes arising as a consequence of therapeutic treatment are suppressed by Olaparib	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0281168
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0281168	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 Matsuno Yusuke, Kusumoto-Matsuo Rika, Manaka Yuya, Asai Haruka, Yoshioka Ken-ichi	4. 巻 12
2. 論文標題 Echoed induction of nucleotide variants and chromosomal structural variants in cancer cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 20964
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-022-25479-6	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 Yoshioka, K., Kusumoto-Matsuo, R., Matsuno, Y., and Ishiai, M.	4. 巻 22
2. 論文標題 Genomic Instability and Cancer Risk Associated with Erroneous DNA Repair	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int. J. Mol. Sci.	6. 最初と最後の頁 12254
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms222212254.	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 Matsuno, Y., Hyodo, M., Suzuki, M., Tanaka, Y., Horikoshi, Y., Murakami, Y., Torigoe, H., Mano, H., Tashiro, S., and Yoshioka, K.	4. 巻 24
2. 論文標題 Replication Stress-Associated DSBs Arisen by Ionizing Radiation Risk Genomic Destabilization and the Associated Clonal Evolution	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 102313
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.isci.2021.102313.	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 Manaka Yuya, Kusumoto-Matsuo Rika, Matsuno Yusuke, Asai Haruka, Yoshioka Ken-ichi	4. 巻 10
2. 論文標題 Single base substitution signatures 17a, 17b, and 40 are induced by -ray irradiation in association with increased reactive oxidative species	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Heliyon	6. 最初と最後の頁 e28044
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.heliyon.2024.e28044	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 -

〔学会発表〕 計2件(うち招待講演 1件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 吉岡研一
2. 発表標題 ゲノム安定性制御を作用点としたがん予防への挑戦
3. 学会等名 日本抗加齢医学会(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉岡研一
2. 発表標題 放射線で誘導される複製ストレスに起因したゲノム不安定性リスクとこれに伴うクローン進化
3. 学会等名 放射線影響学会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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

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
---------	---------