

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年5月23日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22710055

研究課題名（和文） 損傷乗り越え DNA 合成の制御異常と放射線発がん、化学発がんの寄与

研究課題名（英文） The role of translesion DNA synthesis on radiation and chemical induced carcinogenesis

研究代表者

笹谷 めぐみ (SASATANI MEGUMI) (豊島 めぐみ) (TOYOSHIMA MEGUMI)

広島大学・原爆放射線医科学研究所・助教

研究者番号：80423052

研究成果の概要（和文）：放射線発がんにおける点突然変異誘発機構を明らかにするために、損傷乗り越え DNA 合成機構で中心的役割をもつ Rev1 に着目をした。Rev1 の機能を欠失させた遺伝子改変マウスを用いることで、損傷乗り越え DNA 合成機構による突然変異誘発が発がんに及ぼす寄与について検討を行った。

研究成果の概要（英文）：It was explored the role of Rev1, which has the pivotal role on translesion DNA synthesis, to unveil the mutagenesis mechanism in radiation induced carcinogenesis. It was investigated whether Rev1 is required for radiation and chemical induced carcinogenesis by using knock-in mice that lack transferase activity of Rev1. From our data, it was assumed that Rev1 has some different role in radiation and chemical induced tumor development.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2012年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：放射線生物学

科研費の分科・細目：環境学・放射線・化学物質影響科学

キーワード：環境放射線、マウス、発がん、損傷乗り越え修復、細胞、組織

### 1. 研究開始当初の背景

放射線、紫外線の重大な生物影響の1つに発がんがある。これまでの広島長崎の原爆被ばく者をはじめとした疫学研究から、放射線が発がんリスクを増大させることは明らかであるが、その作用機序については未だ明らかになっていない。放射線発がんの分子機構解明は、発がんリスク評価においても重要な

役割を果たすと考えられる。これまでに、原爆被ばく者で誘発された固形がんを用いた遺伝子解析が行われているが、特徴的な遺伝子変化は検出されておらず、自然誘発がん検出される点突然変異が数多く検出されている。

近年の研究から、点突然変異の誘発には損傷部位を乗り越えて複製を行うこと

「損傷乗り越え DNA 合成」のできる特殊なポリメラーゼが関与していることが明らかにされた。このようなポリメラーゼ群は、忠実度が低く、「誤りがちな DNA 合成」をすることで突然変異を誘発する。Rev1 は、損傷乗り越え DNA 合成機構で中心的な役割を果たしていると考えられている。Rev1 は、他の損傷乗り越え DNA 合成を行うポリメラーゼと異なりポリメラーゼ活性はなく、dCTP を基質とするデオキシシチジルトランスフェラーゼ活性を持つ。また、Rev1 が欠損すると様々な損傷に対して感受性を示し、突然変異の誘発が抑制することが報告されているが、この機構には Rev1 のもつデオキシシチジルトランスフェラーゼ活性は必要でないことが報告されている。これまでの「損傷乗り越え DNA 合成」に関する研究は、主として生化学解析や分子生物学的解析を中心に進められてきた。しかし、発がんへの関与まで考えた場合には、がん化する細胞のみでなく間質や免疫系を含めた個体レベルの研究でなければ本質的に解明するのは困難である。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、「損傷乗り越え DNA 合成」の中心的役割を果たしている Rev1 に着目し、Rev1 の機能を欠失させたマウスを用いて、放射線発がん、化学発がんにおける点突然変異誘発機構の寄与を個体レベルで解明することにある。

## 3. 研究の方法

### (1) 放射線発がん、化学発がん実験

Rev1 遺伝子改変マウス (C57BL/6N 系統) は広島大学原爆放射線医科学研究所疾患モデル研究分野の本田浩章先生に作成していただいた。また理化学研究所から分与していただいた Rev1 遺伝子改変マウスも使用した。

放射線照射、化学発がん物質投与後、マウスは終生飼育を行った。呼吸困難や衰弱が見られた場合には屠殺し、肉眼的所見、

組織学的所見から診断を行い、発がん頻度、潜伏期についての解析を行った。

また、化学発がん物質投与後、2 か月でマウスを屠殺し、得られた腫瘍を用いて、がん関連遺伝子の突然変異解析を行った。

### (2) ヒト大腸がんモデルマウスとのかけあわせによる発がん実験

ヒト大腸がんモデルマウスとして、*Apc*<sup>Min/+</sup> マウスを用いた。*Apc*<sup>Min/+</sup> マウス (C57BL/6N 系統) は日本チャールズリバーから購入した。*Apc*<sup>Min/+</sup> マウスと *Rev1* 遺伝子改変マウスを交配させ、得られた仔を実験に使用した。得られたマウスが、小腸腫瘍誘発を高感度に検出できるのか検討した。同時に、点突然変異を誘発する分子機構解析を行った。

## 4. 研究成果

Rev1 の機能を欠失させた遺伝子改変マウスを用いることで、損傷乗り越え DNA 合成機構による突然変異誘発が発がんに及ぼす寄与について検討を行った。野生型マウスと *Rev1* 遺伝子改変マウスを用いて、化学物質に対する発がん実験を開始し、終生観察を行った。呼吸困難や衰弱がみられた場合には屠殺し、肉眼的所見、組織学的所見から診断を行い、発がん頻度、潜伏期についての解析を行った。その結果、Rev1 の機能ドメインの 1 つは化学物質に対する発がんには関与しないことを明らかにした。

さらに、発がん実験で得られた腫瘍を用いてがん関連遺伝子の突然変異解析を行った。結果、Rev1 の機能を欠失させたマウスと野生型マウスに誘発された腫瘍から検出された突然変異、またその変異スペクトラムに差はみられなかった。

次に、ヒト家族性大腸腫瘍のモデルマウスである *Apc*<sup>Min/+</sup> マウスと *Rev1* の機能を欠失させた遺伝子改変マウスとの掛け合わせにより F2 マウスを作成し、自然発症する小腸腫瘍について解析を行った。その結果、F2 マウスは *Apc*<sup>Min/+</sup> マウスと比較して、同程度の腫瘍形成が観察された。このことは、

Rev1 の機能ドメインの一つは、*Apc<sup>Min/+</sup>*マウスによって誘発される腫瘍形成には関与しないことを示唆するといえる。

これまでの研究から、Rev1 の機能亢進は放射線発がんや化学発がんに対して何らかの寄与を及ぼすことが明らかにされているが、我々の注目した Rev1 のドメインは発がんには寄与しないことが個体レベルで明らかにされた。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 10 件)

1. 徐衍賓, 笹谷めぐみ, 河合秀彦, 増田雄司, 神谷研二:複製後修復機構が放射線損傷応答におよぼす寄与. 長崎医学会雑誌, in press, 査読有
2. 河合秀彦, 曹麗麗, 飯塚大輔, 松井啓隆, 金井昭教, 稲葉俊哉, 増田雄司, 笹谷一豊島めぐみ, 神谷研二, 鈴木文男: 恒常的な放射線照射に対する細胞応答の線量率依存性の解析. 広島医学, Vol. 65, No. 4, 302-304, 2012, 査読有
3. 増田雄司, 笹谷めぐみ, 神谷研二: 放射線によって誘発される DNA 損傷に対する複製後修復経路の機能解析. 広島医学, Vol. 65, No. 4, 293-295, 2012, 査読有
4. 笹谷めぐみ, 増田雄司, 神谷研二: APC Min/+マウスにおける放射線誘発消化管腫瘍の解析. 広島医学, Vol. 65, No. 4, 316-318, 2012, 査読有
5. 増田雄司, 笹谷一豊島めぐみ, 神谷研二: 放射線による PCNA のモノヒキチン化の解析. 長崎医学会雑誌 ; 85(特集号): 249-251, 2010, 査読有
6. 笹谷一豊島めぐみ, 増田雄司, 神谷研二: 放射線応答における損傷乗り越え DNA 合成の役割. 長崎医学会雑誌 ; 85(特集号): 239-241, 2010, 査読有
7. 三家本隆宏, 豊島めぐみ, 習 陽, 本田

浩章, 濱崎幹也, 楠 洋一郎, 神谷研二: 損傷乗り越えポリマーゼ Rev1 の過剰発現が放射線による突然変異誘発に与える影響. 広島医学 ; 63(4): 345-347, 2010, 査読有

8. 豊島めぐみ, 習 陽, 三家本隆宏, 渡邊敦光, 増田雄司, 本田浩章, 濱崎幹也, 楠 洋一郎, 神谷研二: 損傷乗り越えポリマーゼ Rev1 の放射線発がんに与える影響. 広島医学 ; 63(4): 348-350, 2010, 査読有
9. Toyoshima M, Honda H, Masuda Y, Kamiya K, Development of the sensitive assay system for tritium risk assessment using Rev1 transgenic mouse, Fusion Science and Technology, 2011, 60, 1204-1208, 査読有
10. Watanabe H, Toyoshima M, Ishikawa M, Kamiya K, Paternal monoenergetic neutron exposure results in abnormal sperm, and embryonal lethality and transgenerational tumorigenesis in mouse F1 offspring, Oncology Report, 2010, 1351-1360, 査読有

[学会発表] (計 20 件)

1. Xu Y, Sasatani M, Kawai H, Kamiya K: Function of RAD18 on radioresponse. The 2nd International Symposium Phenix Leader Education Program (Hiroshima Initiative) for Renaissance for Radiation Disaster, 2013/2/11. Hiroshima
2. 笹谷めぐみ, 徐衍賓, 本田浩章, 渡邊敦光, 神谷研二: 白血病モデルマウス (BCR-ABL トランスジェニックマウス) を用いた放射線誘発胸腺リンパ腫発症機構解明, 日本放射線影響学会第 55 回大会, 2012/9/7, 仙台
3. 河合秀彦, 曹麗麗, 飯塚大輔, 松井啓隆, 金井昭教, 稲葉俊哉, 増田雄司, 笹谷一豊島めぐみ, 神谷研二, 鈴木文男: 異なる線量率のγ線照射下での細

- 胞応答の多次元解析, 日本放射線影響学会第 55 回大会, 2012/9/6, 仙台
4. 徐衍賓, 笹谷めぐみ, 河合秀彦, 増田雄司, 神谷研二: Role of post-replication repair system on radioresponse, 日本放射線影響学会第 55 回大会, 2012/9/6, 仙台
  5. 曹麗麗, 河合秀彦, 飯塚大輔, 松井啓隆, 金井昭教, 稲葉俊哉, 笹谷-豊島めぐみ, 神谷研二, 鈴木文男: 慢性的な $\gamma$ 線照射に対する細胞応答の先端技術を用いた解析. 第 53 回原子爆弾後障害研究会, 2012/6/3, 長崎
  6. 徐衍賓, 笹谷めぐみ, 河合秀彦, 増田雄司, 神谷研二: 複製後修復機構が放射線損傷応答におよぼす寄与. 第 53 回原子爆弾後障害研究会, 2012/6/3, 長崎
  7. 河合秀彦, 曹麗麗, 飯塚大輔, 松井啓隆, 金井昭教, 稲葉俊哉, 増田雄司, 笹谷-豊島めぐみ, 神谷研二, 鈴木文男:  $\gamma$ 線の照射環境下での細胞応答の線量率依存性の解析, 日本放射線影響学会第 54 回大会, 2011/11/19, 神戸
  8. 笹谷めぐみ, 徐衍賓, 本田浩章, 濱崎幹也, 楠洋一郎, 渡邊敦光, 増田雄司, 神谷研二: 放射線発がんゲノム不安定性, 日本放射線影響学会第 54 回大会, 2011/11/17, 神戸
  9. 笹谷めぐみ, 本田浩章, 増田雄司, 渡邊敦光, 神谷研二: Role of over-expressed Rev1 in cancer development, 第 70 回日本癌学会学術総会, 2011/10/5, 名古屋
  10. Sasatani M, Honda H, Hamasaki K, Kusunoki Y, Masuda Y, Kamiya K: The role of Rev1 in radiation and chemical-induced tumor development using Rev1 Tg mice, 14th International Congress of Radiation Research, 2011/9/1, Warsaw, Poland
  11. 笹谷めぐみ, 徐衍賓, 本田浩章, 楠洋一郎, 渡邊敦光, 増田雄司, 神谷研二: APC<sup>Min/+</sup>マウスを用いた放射線誘発消化管腫瘍の解析. 第 36 回中国四国地区放射線影響研究会, 2011/7/28, 広島
  12. 河合秀彦, 曹麗麗, 飯塚大輔, 松井啓隆, 金井昭教, 稲葉俊哉, 増田雄司, 笹谷-豊島めぐみ, 神谷研二, 鈴木文男: 恒常的な放射線照射に対する細胞応答の線量率依存性の解析. 第 53 回原子爆弾後障害研究会, 2011/6/5, 広島
  13. 増田雄司, 笹谷めぐみ, 神谷研二: 放射線によって誘発される DNA 損傷に対する複製後修復経路の機能解析. 第 53 回原子爆弾後障害研究会, 2011/6/5, 広島
  14. 笹谷めぐみ, 増田雄司, 神谷研二: APC Min/+マウスにおける放射線誘発消化管腫瘍の解析. 第 53 回原子爆弾後障害研究会, 2011/6/5, 広島
  15. Toyoshima M., Honda H., Watanabe H., Masuda Y., Kamiya K., Development of the sensitive assay system for tritium risk assessment using Rev1 transgenic mouse, 9th International Conference on Tritium Science and Technology, 2010/10/26, Nara
  16. 笹谷めぐみ, 本田浩章, 濱崎幹也, 楠洋一郎, 渡邊敦光, 増田雄司, 神谷研二, 放射線発がんにおける損傷乗り越え DNA 合成酵素 Rev1 の及ぼす寄与, 日本放射線影響学会第 53 回大会, 2010/10/20, 京都
  17. 笹谷めぐみ, 本田浩章, 増田雄司, 渡邊敦光, 神谷研二, Rev1 の過剰発現は化学物質による発がんを促進する, 第 69 回日本癌学会学術総会, 2010/9/24, 大阪
  18. 増田雄司, 笹谷-豊島めぐみ, 神谷研二, 放射線による PCNA のモノユビキチン化の解析, 第 51 回原子爆弾後障害研究会, 2010/6/6, 広島
  19. 笹谷-豊島めぐみ, 増田雄司, 神谷研二: 放射線応答における損傷乗り越え

DNA 合成の役割. 第 51 回原子爆弾後障  
害研究会, 2010/6/6, 広島

20. 笹谷めぐみ、本田浩章、楠洋一郎、増  
田雄司、神谷研二: 放射線分割照射に  
よって誘発される胸腺リンパ腫発症メ  
カニズムと損傷乗り越え DNA 合成機構  
異常が及ぼす影響. 第 6 回広島大学・  
長崎大学連携研究事業カンファレン  
ス, 2010/6/5, 広島

[その他]

ホームページ等

[http://home.hiroshima-u.ac.jp/exponc/in  
dex.html](http://home.hiroshima-u.ac.jp/exponc/index.html)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

笹谷 めぐみ(豊島 めぐみ) (SASATANI  
MEGUMI) (TOYOSHIMA MEGUMI)

広島大学・原爆放射線医科学研究所・助教  
研究者番号: 8 0 4 2 3 0 5 2

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号:

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号: