

平成 29 年 5 月 1 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26281023

研究課題名(和文) DNA損傷クロマチン応答のエピジェネティックメモリーの分子機構解明

研究課題名(英文) Molecular mechanism of epigenetic memory associated with DNA damage response

研究代表者

鈴木 啓司 (SUZUKI, Keiji)

長崎大学・原爆後障害医療研究所・准教授

研究者番号：00196809

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,800,000円

研究成果の概要(和文)：放射線により誘発されるDNA二重鎖切断は、ATM依存的DNA損傷応答経路を活性化するが、残存DNA損傷においては、DNA損傷情報の持続的増幅機構が、細胞分裂を経ても維持され、分裂後の子孫細胞で、DNA損傷情報増幅複合体の再構築が行われる。本研究では、このプロセスに特異的なエピジェネティックマークが関わっているとの仮説を証明するのが目的である。研究の結果、細胞分裂を経て伝播されるエピジェネティックマークは、メチル化やアセチル化、あるいはユビキチン化ではなく、ヒストンH2AXのリン酸化であること、また、そのリン酸化に依存したMDC1タンパク質の染色体会合が分裂後の再構築に必須であることを証明した。

研究成果の概要(英文)：DNA double-strand breaks caused by ionizing radiation result in an activation of ATM-dependent DNA damage signaling pathway. While most of DNA breaks are amendable, unreparable and residual breaks amplify DNA damage signal, which will be transmitted through mitosis. In the present study, it was aimed to identify epigenetic marks associated with DNA damage signal transmission. Analyses using immunofluorescence revealed that histone modifications, such as methylation, acetylation, and ubiquitination, might not be involved in the process, whereas phosphorylation of histone H2AX remained on damaged chromosomes. In addition, localization of MDC1 on damaged chromosomes was detected during mitosis. These results indicate that epigenetic modification of H2AX is critical for the transmission of amplified DNA damage signal through cell division.

研究分野：放射線生物学

キーワード：放射線 DNA損傷 情報伝達 エピジェネティクス

## 1. 研究開始当初の背景

放射線の晩発影響として広く知られる発がんには、放射線により誘発された DNA 二重鎖切断に起因するゲノム不安定化が深く関与している。このため、細胞には、DNA 損傷チェックポイントの活性化により細胞周期を停止したり、細胞死を誘導することによって、DNA 二重鎖切断を有する細胞を生体から排除し、それぞれの臓器あるいは組織、ひいては個体の恒常性を保持するメカニズムが存在する。放射線に対する細胞応答において必要不可欠な役割を果たしているのが、放射線高感受性（発がん高感受性）の遺伝疾患である毛細血管拡張性運動失調症（Ataxia-telangiectasia : AT）の原因遺伝子産物である、AT mutated (ATM) 遺伝子産物によって制御される DNA 損傷応答経路である。これまでの研究により、DNA 二重鎖切断に起因するクロマチン損傷が ATM を活性化し、活性化した ATM がヒストンコアを構成するヒストン H2AX を始め多くの DNA 損傷応答因子をリン酸化することにより、DNA 損傷応答を惹起することが明らかにされた。さらに、DNA 損傷応答因子は、FHA や BRCT 等のリン酸化結合ドメインを介して蛋白質複合体を構築することによって、蛍光顕微鏡下で可視化できる斑点上のフォーカスを形成することが報告されてきた。

このように、多くの研究によって、DNA 二重鎖切断が生成された直後の応答についてはよく理解されているが、DNA 二重鎖切断は、DNA 損傷修復能により効率よく修復される一方で、線量に応じては、修復不能あるいは修復困難な損傷が残り、このような残存損傷が、細胞周期停止や細胞死の誘導等の放射線応答に密接に関与していることを本申請者は明らかにしてきた。特に、このような残存 DNA 損傷が効率的に DNA 損傷応答を誘導するために、DNA 損傷情報を長期間にわたって増幅し続けるメカニズムが存在することも証明してきた。さらに、この継続的増幅には、初期のヒストン修飾であるヒストン H2AX のリン酸化に加え、部位特異的ジメチル化酵素である G9a によるヒストン H3 蛋白質の修飾が関与していることをつきとめた(基盤研究(B)平成 23 年度～25 年度)。

これらの研究の中で、継続的増幅機構が、細胞分裂を経ても損傷クロマチンマークとして分裂後の子孫細胞にも伝達され、分裂後の細胞における DNA 損傷情報増幅複合体の再構築に深く関与する可能性を発見した。DNA 損傷による G2 アレストが一時的であることを考慮すると、ゲノム安定性を維持するための基本メカニズムとして、細胞に普遍的に備わった新たな分子機構であると考え、『DNA 損傷クロマチン応答の細胞分裂を経た持続に特異的なエピジェネティックマークが関わっている』との仮説を世界で初めて提唱し、細胞分裂を経て DNA 損傷応答増幅機構を伝播するエピジェネティックマークの

同定、細胞分裂後の DNA 損傷情報増幅複合体の再構築の分子機構、および細胞分裂を経た DNA 損傷クロマチン応答の持続の生物学的意義、を明らかにすることにより、放射線により誘発される DNA 二重鎖切断に対する細胞のゲノム損傷応答の新機軸を証明することを目指す研究を着想するに至った。

## 2. 研究の目的

放射線により誘発される DNA 二重鎖切断は、ATM 依存的 DNA 損傷応答経路を活性化するが、本申請者は、修復困難な残存 DNA 損傷において、DNA 損傷情報の継続的増幅機構が存在することを見いだしてきた。それらの研究の中で、継続的増幅機構が、細胞分裂を経ても損傷クロマチンマークとして維持され、分裂後の子孫細胞で、DNA 損傷情報増幅複合体の再構築に深く関与する可能性を見いだした。そこで本研究では、『DNA 損傷クロマチン応答の細胞分裂を経た持続に特異的なエピジェネティックマークが関わっている』との仮説を提唱し、エピジェネティックマークに関与するヒストン修飾の同定、細胞分裂後の DNA 損傷情報増幅複合体の再構築機構、および細胞分裂を経た DNA 損傷クロマチン応答の持続の生物学的意義を明らかにすることにより、放射線によるゲノム損傷応答の新機軸を証明することを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) 細胞分裂を経て伝播されるエピジェネティックマークの同定

放射線により誘発された DNA 二重鎖切断による DNA 損傷情報増幅複合体は、ヒストンのリン酸化、メチル化、ユビキチン化およびアセチル化に依存して形成されている。そこで、分裂期のヒト細胞でこれらのヒストン修飾の特異的検出を可能にする、蛍光免疫染色法に応用可能な抗体の特定を計画した。

具体的には、マイクロ局所照射法および I-PpoI 誘導発現系により、細胞核内の限局した領域に DNA 二重鎖切断を誘導し、照射あるいは処理 12 時間後の残存 DNA 損傷において、各種のヒストン修飾に対する抗体を用いて、ヒストン H2AX の S139 リン酸化により特定した DNA 損傷領域に対応したシグナルを形成する抗体を選別した。対象とするヒストン修飾は、ヒストン H2A および H2B、H3、H4 の修飾である。

次に、I-PpoI 誘導発現系により局所的に DNA 二重鎖切断を誘導した後、CHK1/2 阻害剤 (1  $\mu$ M AZD7762) の添加により G2 アレストをバイパスして分裂期に移行した細胞において、細胞分裂期の染色体上に維持されるヒストン修飾を、分裂前期、分裂中期、分裂後期および分裂終期に分けて特定した。I-PpoI の主要な標的領域は、5 本の染色体上に約 300 コピー程度が散在しているため、I-PpoI の発現は、12 時間でおおよそ 1Gy 照射相当の DNA

二重鎖切断を誘導する。

マイクロ照射法は、あらかじめ BrdU を添加した培養液中で細胞をおおよそ 48 時間培養し、その後、PBS で洗浄した細胞の上に、5  $\mu\text{m}$  のポアの開いた PETF 膜をのせ、254nm の紫外線を照射して行った。蛍光抗体法は、一次抗体としてマウスあるいはウサギ由来の抗体を使用するため、二次抗体には Alexa488、Alexa594 および Alexa647 で標識した、抗マウス抗体あるいは抗ウサギ抗体を用いた。染色後は、DAPI を含む 10% グリセリン中に包埋して保存し、蛍光顕微鏡により観察した。観察画像は、デジタル画像として取得し、画像処理・解析ソフトにより解析した。

### (2) 細胞分裂後の DNA 損傷情報増幅複合体再構築機構の解明

細胞分裂を終了した細胞では、53BP1 フォーカスが再び観察されるようになり、細胞周期が次の G1 期に移行するに従い、DNA 損傷情報増幅機構が再構築されると考えられる。そこで、再構築プロセスを制御する分子機構の時空間的解析を、エピジェネティックマークおよび DNA 損傷クロマチンに集積する DNA 損傷情報増幅因子に着目して行った。まず、エピジェネティックマークについては、I-PpoI 誘導発現系により局所的に DNA 二重鎖切断を誘導した後、CHK1/2 阻害剤 (1  $\mu\text{M}$  AZD7762) の添加により G2 アレストをバイパスして分裂期に移行した細胞において、細胞分裂期を終結して次の G1 期に入った細胞でのヒストン修飾を蛍光免疫染色法により特定した。

また、分裂終期から次の G1 期に入る過程では、クロマチン高次構造のダイナミックな変化が見られる。そこで、ラミン A/C に対する抗体を用いて、分裂終期から細胞核膜が再構築される過程を把握し、G1 期の成熟した細胞核形態に移行する過程の変化を詳細に追跡した。DNA 損傷は、ヒストン H2AX の S139 リン酸化により同定し、ヒストン H2A、H2B、H3 および H4 の修飾を対象にした。

さらに、G1 期に進行した細胞核において、MDC1、ATM、MRN 複合体、RFN8、RFN168、RAP80、BRCA1 および 53BP1 のリロードを解析するとともに、複合体再構築がヒストン H2AX のリン酸化に依存していることを、H2AX 遺伝子を破壊した細胞において確認した。さらに、ATM および DNA-PK 等に対する阻害剤の効果も調べた。

### (3) 分裂期染色体における DNA 損傷応答因子の局在化解析

分裂中期染色体上での DNA 損傷情報増幅因子の局在化を定量的に解析するため、I-PpoI を 12 時間処理後からコルセミドによって分裂中期に細胞周期を停止させた細胞をタッピング法により回収し、低張処理により細胞膜を破壊して細胞質に遊離する蛋白質を回収し、その後、高速遠心により分裂中期染色体を濃縮採取した。分裂中期染色体に会合する蛋白質を抽出するため、染色体ペレット

を RIPA 抽出液に溶解し、分裂期染色体由来タンパク質を調製した。タンパク質濃度の定量後に、ウェスタンブロット法により解析を行った。コントロールとしては、I-PpoI を発現処理していない細胞から、同様の方法により染色体タンパク質を抽出してコントロールサンプルとした。

## 4. 研究成果

### (1) 細胞分裂を経て伝播されるエピジェネティックマークの同定

本研究では、分裂期のヒト細胞でヒストン修飾の特異的検出を計画した。しかしながら、ヒストン修飾を検出する抗体の特異性は、必ずしも高いものばかりではなく、むしろ、検出感度が十分ではないものも多数存在することが明らかになった。このため、まず、それぞれのヒストン修飾を検出するために最適の抗体を選別すること、次に、最適の抗体が得られなかった場合でも、ヒストン修飾の特異的検出を可能にするための、局所的 DNA 損傷誘発系の確立をめざした。

放射線により誘発される DNA 二重鎖切断は、通常核内に均一に生成するため、本研究では、1) マイクロ局所照射法、2) I-PpoI による局所 DNA 損傷誘発法、の 2 種類の手法を応用して、局所に DNA 損傷を誘発する事を試みた。マイクロ照射法では、あらかじめ BrdU 標識した細胞に、マイクロポアメンブレンを通して UVC を照射する。様々なポアサイズのメンブレンを選択することにより、異なったサイズで局所に DNA 損傷を誘発できる。紫外線の効果により、ダイマータイプの損傷や塩基損傷、あるいは一本鎖切断が誘起されるが、BrdU の増感効果により、DNA 二重鎖切断が局所に高密度に誘発できる。同じ放射線でも、High-LET タイプの重粒子線は、局所に高密度で DNA 二重鎖切断を誘導できるが、マイクロ照射法で誘発した DNA 二重鎖切断も同様の誘発パターンを示す。

一方、I-PpoI による局所 DNA 損傷誘発法では、哺乳類細胞には存在しない制限酵素である I-PpoI を利用する。I-PpoI の主要な標的領域は、5 本の別々の染色体上に約 300 コピー程度が散在しているといわれており、28 S rRNA 遺伝子に認識配列があるため、第 13 番、第 14 番、第 15 番、第 21 番、第 22 番染色体上に DNA 二重鎖切断のクラスターを形成する。特に、I-PpoI を持続的に処理することにより、持続的に DNA 二重鎖切断を誘導することが可能で、I-PpoI の発現を 12 時間持続した場合の DNA 二重鎖切断は、おおよそ 1Gy 照射相当であると見積られている。さらに、持続処理により、DNA 切断と修復のサイクルが連続的に起こる中で、一定の確率で誤修復が起こり、それが蓄積する事によって修復不可能な DNA 二重鎖切断を誘起することが可能で、このため、本研究では、12 時間の連続処理を採用した (図 1)。

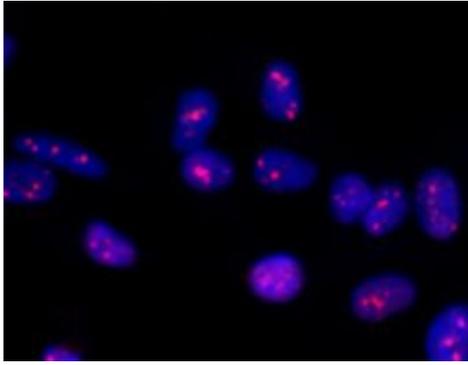


図1 I-PpoIによるDNA二重鎖切断の誘発  
I-PpoIを12時間連続処理した直後の細胞。  
53BP1のフォーカスが観察され、その数は、  
1Gy照射12時間後の数と同等。

放射線により誘発されたDNA二重鎖切断によるDNA損傷情報増幅複合体は、ヒストンH2AXのリン酸化を基点に、ユビキチン化、メチル化およびアセチル化などのエピジェネティックマークに依存した連続反応により形成される。一方で、DNA二重鎖切断が修復されると、H2AXのリン酸化が脱リン酸化酵素によって解除され、DNA損傷情報増幅複合体は解離する。このため、照射後に分裂期に入った細胞に残るエピジェネティックマークを解析するためには、照射後数時間たっても残る残存損傷が誘発されることを確認しなければならない。そこで、マイクロ局所照射法およびI-PpoI誘導発現系により、細胞核内の限局した領域にDNA二重鎖切断を誘導し、照射あるいは12時間処理後24時間の段階で、残存DNA損傷を、リン酸化H2AXおよび53BP1フォーカスを指標に検出を試みた。その結果、マイクロ照射部位およびI-PpoI処理細胞において、長時間残存する明確なフォーカスの存在を確認し、これらの処理が、細胞内に修復不可能なDNA二重鎖切断を誘発していることを確かめた。

そこで次に、各種のヒストン修飾に対する抗体を用いて、ヒストンH2AXのS139リン酸化フォーカスにより特定されるDNA損傷領域に局在するシグナルを形成する修飾を検出できる抗体の選別を行った。対象とするヒストン修飾は、ヒストンH2AのK5/9のアセチル化およびK13/15およびK119のユビキチン化、H2BのK5/12/15のアセチル化およびK120のユビキチン化、H3のK4/9/27/36/56/79のアセチル化もしくはメチル化、そしてH4のK16のアセチル化およびK20のメチル化である。これら修飾ヒストンに対する抗体は、CST社、Active Motif社およびAbcam社から提供されているものを対象に検討を行った。その結果、H2Aの修飾に対する抗体は、いずれもフォーカスに共同在するシグナルを示すものではなく、これらの修飾は検討の対象とはしなかった。もちろん、核に特徴的なシグナル

が得られた抗体もあったので、修飾そのものを検出している可能性はあったが、そのシグナルの局在がDNA二重鎖切断の有無にかかわらず変化しなかったため、エピジェネティックマークの候補からは外するのが妥当と判断した。次に、H2Bの修飾についても検討を行ったが、これらの修飾に対する抗体の検討結果もH2Aの場合と同様であった。このため、修飾そのものは検出しているケースもあると考えられるが、エピジェネティックマークとしては解析対象から外した。H4に対する修飾抗体も同じ結果であったのに対し、ヒストンH3に対する抗体では、変化を捉まえる事ができた。特に、K9のメチル化に対する抗体では、リン酸化H2AXフォーカスと共同在するシグナルがDNA損傷特異的に観察されたことから、同部位のメチル化レベルの変化は、DNA損傷応答反応と共役していると結論づけることができた。一方で、H3K79のメチル化がDNA損傷応答に関与するとの報告がこれまでにあったが、同様の結果は、本研究では得られず、先行研究ががん細胞を用いたものであったことを考えると、正常ヒト細胞での応答とがん細胞の応答とでは質的な違いがあるのではないかと考えられた。

#### (2)細胞分裂後のDNA損傷情報増幅複合体再構築機構の解明

細胞分裂を終了した細胞では、細胞周期が次のG1期に移行するに従い、DNA損傷情報増幅複合体が再構築される。そこで、再構築プロセスを制御する分子機構の時空間的解析を、エピジェネティックマークおよびDNA損傷クロマチンに集積するDNA損傷情報増幅因子に着目して行った。

まず、エピジェネティックマークについては、細胞に対するダメージを考慮して、I-PpoI誘導発現系による局所的DNA二重鎖切断を応用した。正常細胞では、通常、DNA二重鎖切断を誘発した後は、速やかに細胞周期停止を発動するためのDNA損傷チェックポイントの活性化が惹起される。その結果、G1期停止、S期停止およびG2期停止が誘導される。細胞分裂にかかわるG2期停止は、永続的な細胞周期であるG1期停止とは異なり、あくまでも一時的な細胞周期停止である。しかしながら、DNA損傷を持つ細胞では、長時間持続するG2期遅延現象を引き起こし、本研究が対象とする細胞分裂を経たDNA損傷応答増幅機構の分裂後の再構築を効率良く検出できない。そこで、G2期停止のキー因子であるCHK1/2に対する阻害剤を添加して、G2期停止をバイパスして分裂期に移行した細胞において、細胞分裂期を終結して次のG1期に入った細胞でのヒストン修飾を検討した。また、分裂終期から次のG1期に入る過程で起こる、クロマチン高次構造のダイナミックな変化を、ラミンA/Cに対する抗体を用いて、分裂期各段階で、詳細に追跡する計画であったが、これら一連の変化が、極めて動的な変化であることを鑑み、ライブイメージング解

析を導入することとした。

すでに、ヒストン H2AX のリン酸化が、細胞分裂期を経て維持されることが明らかにされているが、核内の DNA (クロマチン) の凝縮が始まり染色糸が構築される分裂前期から、分配する染色体を赤道面上に整列させる分裂中期、姉妹染色体を両極に分配する分裂後期、分配後の染色体が脱凝縮し、再び G1 期の核に変換されていく分裂周期の、いずれの時期でも、染色体上にリン酸化 H2AX の明確なシグナルの存在を確認した (図 2)。そこで、既に確認された H3 のメチル化に対する抗体を用いて、シグナルの有無を確認したところ、分裂期前まで確認されていたシグナルは、分裂期の細胞では消失することを見いだした。

次に、DNA 損傷情報増幅複合体の構成要素について、細胞分裂期での局在性を検討した。対象としたのは、MDC1、ATM、MRN 複合体、RFN8、RFN168、RAP80、BRCA1 および 53BP1 である。その結果、G1 期細胞での局在が明確に示された因子の中で、リン酸化 H2AX と共局在することが確認できたのは MDC1 であった。逆に、分裂期において局在性が認められないことが判明したのは、NBS1、BRCA1 および 53BP1 であった (図 2)。

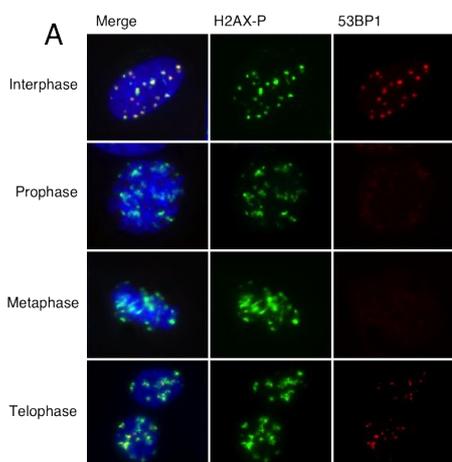


図 2 分裂期における DNA 損傷情報増幅複合体の構成要素の挙動

これらの結果から、DNA 損傷情報の細胞分裂を経た伝播、および、細胞分裂終結後の DNA 損傷情報増幅複合体の再構築には、ヒストン H2AX のリン酸化がエピジェネティックマークとして関与していることが結論づけられた。一連の DNA 損傷応答、および複合体再構築が、ヒストン H2AX のリン酸化に依存していることを確認するために、H2AX 遺伝子を破壊した細胞において検討したところ、確かに間期での DNA 損傷応答因子のフォーカス形成が消失するだけでなく、細胞分裂期を経た DNA 損傷情報増幅複合体の再構築も、完全に消失していることを確認し、同エピジェネティック修飾の重要性を再確認した。

### (3) 分裂期染色体における DNA 損傷応答因子の局在化解析

分裂中期染色体上での DNA 損傷情報増幅因子の局在化を定量的に解析するため、I-PpoI を 12 時間処理後からコルセミドによって分裂中期に細胞周期を停止させた細胞をタッピング法により回収し、低張処理により細胞膜を破壊して、高速遠心により分裂中期染色体のみを濃縮採取した。その後、分裂中期染色体に会合する蛋白質を抽出するため、染色体ペレットを RIPA 抽出液に溶解し、分裂期染色体由来タンパク質サンプルを調製し、タンパク質濃度の定量後に、ウェスタンブロット法により解析を行った。まず、分裂中期染色体に会合するタンパク質としてヒストン H2AX を同定した。また、H2AX のリン酸化も確認できた。さらに、MDC1 タンパク質の会合も同定できたが、NBS1 や 53BP1 は、結合タンパク質として検出されず、蛍光免疫染色によって得られた結果と同様の結果が得られた。加えて、I-PpoI を発現処理していない細胞から、同様の方法により染色体タンパク質を抽出したコントロールサンプルとの比較により、H2AX のタンパク質レベルは、DNA 損傷の有無により変化しないこと、MDC1 タンパク質は DNA 損傷がなければ染色体には会合しないことが確認できた。

以上の結果から、DNA 二重鎖切断は、クロマチンの高次構造変化により ATM 機能を活性化し、ヒストン H2AX のリン酸化を基点に数多くの因子のリン酸化を介して、DNA 損傷情報増幅複合体を形成するが、細胞分裂期を経て DNA 損傷情報を伝播する役割は、唯一 H2AX のリン酸化というエピジェネティックマークを介して行われていることが判明した。この結果は、ある意味では極めて合理的なシステムであるということが出来る。なぜならば、間期の細胞では、DNA 損傷修復および DNA 損傷応答を効率良く行うために、DNA 損傷情報法の増幅が必要であるが、分裂期ではこれらの機能は抑制されるべきであるからである。分裂期の染色体は、テロメアに DNA 二重鎖切断と同じ構造を持つことから、DNA 修復はテロメア異常につながるし、DNA 損傷応答は、通常長のテロメアでも細胞周期の停止につながってしまうからである。一方で、細胞分裂後には、修復されていないクロマチン部位で、DNA 損傷情報増幅複合体を再構築する必要がある。このため、一連の反応の基点となる H2AX のリン酸化のエピジェネティックマークのみを伝播するメカニズムは、最も合理的かつ適切なものであると考えざるを得ない。

加えて興味深いのは、リン酸化 H2AX に会合する MDC1 も、分裂期染色体に会合していることである。分裂中期染色体由来タンパク質の解析からもわかるように、DNA 損傷非存在下では、H2AX はリン酸化されておらず、MDC1 も染色体に会合していない。したがって、エピジェネティックマーク依存的に MDC1 が

リクルートされているが、ここまでの反応は染色体上に保持され、細胞周期が次の G1 期に入ってから、MDC1 以降の複合体形成が再構築されるようになる。タンパク質複合体形成のコアとしては、MDC1 が仲介するリン酸化からユビキチン化への変換、さらにはメチル化への変換が効率良く行われるためのコアとして、MDC1 の会合はこれまた合理的である。

今後の課題としては、まず分裂期終了後の ATM の役割を解明する必要がある。H2AX のリン酸化は維持されるのはいいとして、その後の複合体形成反応には、MDC1 以降のタンパク質のリン酸化が必要であると思われる。もしそうだとすると、ATM も活性化された状態で染色体に会合していないといけないが、本研究で解析した範囲では、そのような証拠は得られなかった。細胞分裂期終結後に、再ロードされるメカニズムがあるのか否か、この点の解明は、DNA 損傷情報の伝播の理解という点で、極めて重要である。また、分裂期で一時的に消失するメチル化修飾の再生機構も明らかにしなければならない。クロマチン構造の染色体への変換、および染色体構造からクロマチン構造への変換においてメチル化修飾は一時的に無効化されているという結果であるが、DNA 損傷情報増幅においては、同エピジェネティックマークは必要不可欠であるため、これも、何らかのメカニズムで再活性化されるはずである。最後に、エピジェネティック修飾と合わせて、DNA 損傷応答因子側のタンパク質修飾の解析も進めなければならない。既に、先行研究で、DNA 損傷情報増幅複合体の構成要素が多様なタンパク質修飾を受けることが解明されており、これらの修飾は、複合体形成にも重要であることが示されているからである。これらの修飾が、どのようなメカニズムで、どのようなシケンスで進行するのか、今後明らかにすることで、細胞分裂期を経た DNA 損傷情報増幅複合体の伝播の全貌が明らかになることを期待している。

## 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 5 件)

Yamauchi M, Shibata A, Suzuki K, Suzuki M, Niimi A, Kondo H, Miura M, Hirakawa M, Tsujita K, Yamashita S, Matsuda N. Regulation of pairing between broken DNA-containing chromatin regions by Ku80, DNA-PKcs, ATM and 53BP1. *Sci Rep*, 査読あり, 7, 41812, 2017. doi: 10.1038/srep41812. Niimi A, Yamauchi M, Limsirichaikul S, Sekine R, Oike T, Sato H, Suzuki K, Held KD, Nakano T, Shibata A. Identification of DNA double strand breaks at chromosome boundaries along

the track of particle irradiation. *Genes Chromosomes Cancer*, 査読有, 55, 650-660, 2016. doi: 10.1002/gcc.22376.

Otsuka K, Suzuki K. Differences in radiation dose response between small and large intestinal crypts. *Radiat Res*, 査読有, 186, 302-314, 2016. doi: 10.1667/RR14455.1.

Kobashigawa S, Kashino G, Suzuki K, Yamashita S, Mori H. Ionizing radiation-induced cell death is partly caused by increase of mitochondrial reactive oxygen species in normal human fibroblast cells. *Radiat Res*, 査読有, 183, 455-464, 2015. doi: 10.1667/RR13772.1.

Suzuki K, Mitsutake N, Saenko V, Yamashita S. Radiation signatures in childhood thyroid cancers after the Chernobyl accident: possible roles of radiation in carcinogenesis. *Cancer Sci*, 査読有, 106, 127-133, 2015. doi: 10.1111/cas.12583.

### 〔学会発表〕(計 2 件)

Suzuki K. Tissue response to radiation exposure. 14th International Workshop on Radiation Damage to DNA. March 20-23, 2016, Melbourne, Australia.

Yamauchi M, Suzuki K. ATM and DNA-PKcs suppress pairing between multiple DNA double-strand breaks. BMB2015, December 3-5, 2015, パシフィコ横浜 (神奈川県・横浜市)

### 〔図書〕(計 0 件)

### 〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

### 〔その他〕

ホームページ等

長崎大学原爆後障害医療研究所放射線災害医療学研究分野

<http://www-sdc.med.nagasaki-u.ac.jp/drms/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

鈴木 啓司 (SUZUKI, Keiji)

長崎大学・原爆後障害医療研究所・准教授  
研究者番号: 00196809