

低線量影響と DNA 修復 -良い修復と悪い修復-

小松賢志、京都大学・放射線生物研究センター

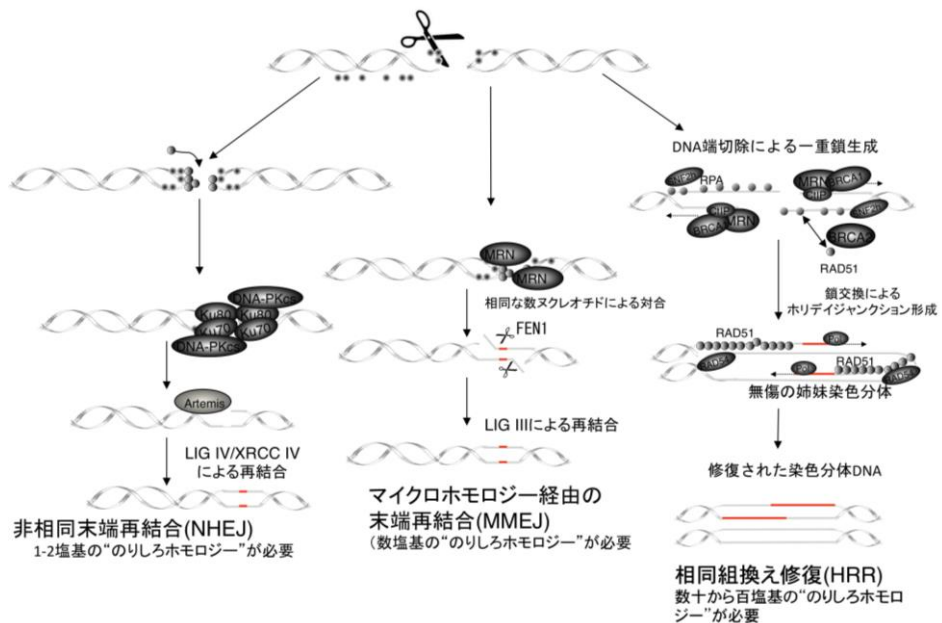
1. 初めに

東京電力福島原子力発電所の事故以来、低線量・低線量率放射線の人体影響が社会的関心を集めている。放射線はヒト細胞の DNA に損傷を誘発するので、例えわずかな放射線量でも危険である。このことは、放射線に神経質な人々に危惧されている。一方、多くの研究者・知識人による啓蒙活動の結果、放射線による DNA 損傷が元通りに回復する DNA 修復機構の存在も理解されつつある。それでは、元通りに直す修復機構があるにもかかわらず、微量の放射線でも放射線リスクがあるのはどうしてだろうか？ ICRP99 は「(DNA) 切断が誤った修復を受けた場合は、発がん性損傷として（修復を受けない場合）より大きな脅威となるかもしれない」と DNA 修復の潜在的な危険性を指摘している。ICRP99 は 2004 年までの科学的知見をまとめた報告であるが、本講演ではそれ以降の報告や私の教室での最近の発見も含めて、二種類の DNA 修復過程から低線量の放射線影響を概説する。生体が放射線に感受性であると言った場合に、「細胞が死ぬ（致死）」場合と「がん化する（突然変異）」場合の二通りの意味がある。両者は必ずしも一致しないので、ここでは分けて話を進める。

2. DNA 修復機構

ヒトやマウスの染色体は、水素結合を介して結びついた二重鎖構造のわずか一本の DNA 分子でつながっている。従って、この二重鎖 DNA が切断すると染色体の切断が起こり、

図1. DNA二重鎖切断修復の種類.

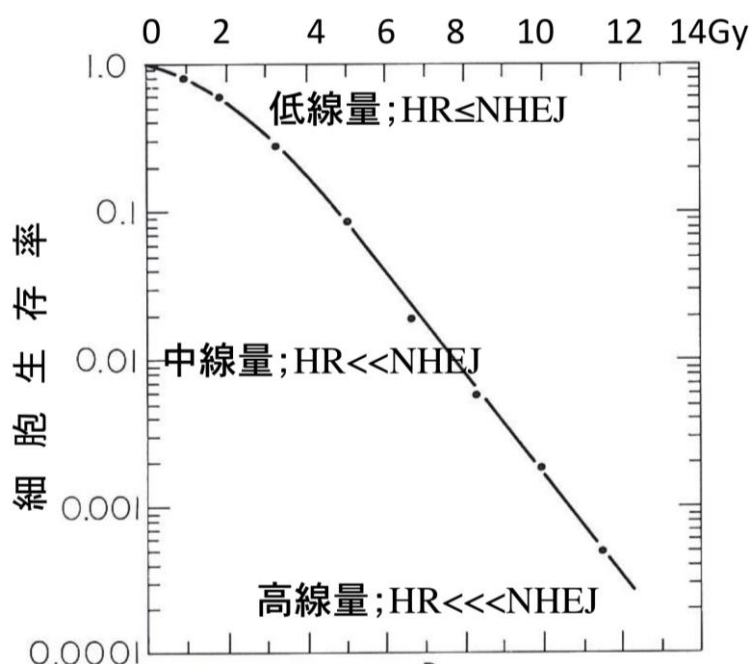


細胞分裂や蛋白の合成が出来なくなる。放射線はこの DNA 二重鎖切断を起こすことで細胞に重篤な損傷を与えると考えられている。DNA 二重鎖切断は放射線だけでなく自然にも一定の頻度で起こっているが、それらの大部分は DNA 修復機構により再結合される。ほ乳類細胞では、DNA 修復機構として相同組み換え修復と末端再結合の二種類が知られている (図 1)¹⁾。相同組み換え修復は、大腸菌から酵母、ヒトまで共通して保有する修復機構で、RAD51 蛋白 (大腸菌では RecA 蛋白) が DNA 二重鎖切断部位と相同な配列 (ホモロジー) の DNA を細胞内でみつけ出して、その塩基配列を鋳型にした切断部位の修復合成により DNA を元通りにする。一方、末端再結合は高等生物に特有であり、大腸菌など下等生物には存在しない。末端再結合はさらに、非相同末端再結合とその 1/3 から 1/4 の頻度で起こるマイクロホモロジー経由再結合に分けられる。前者は相同な塩基配列は必要ないと信じられて名前が付けられたが、この名称は必ずしも正しくない。非相同末端再結合では 1-2 塩基の相同な配列 (のりしろホモロジー)、そしてマイクロホモロジー経由再結合では数塩基の相同な配列 (のりしろマイクロホモロジー) が DNA 二重鎖切断の再結合に必要である。従来、放射線照射による DNA 二重鎖切断の再結合には末端再結合が優勢で有り、相同組み換え修復はほとんど機能していないと考えられた。これは主として、末端再結合の修復蛋白が欠損すると放射線高感受性になるが、相同組み換え修復の蛋白が欠損しても中・高線量の放射線に対する感受性がほとんど変わらない観察結果に基づいている。

3. 低線量での細胞致死効果 と DNA 修復

細胞に放射線を照射すると、放射線線量の増加とともに、細胞の生存率が低下する。しかし、1-2Gy の低線量放射線領域では細胞の生存率がなかなか低下しない (致死が起こりにくい) 放射線抵抗性がみられる。その形状から生存率曲線の“肩”とも呼ばれるこの現象は放射線生物研究者の関心を呼び、物理的な損傷に基づく複数のモデル

図2. 放射線-生存率曲線



が提案され利用されてきた。しかし、細胞生存率の実体と合わず現在までにモデル化に成

功しているとは言いがたい。この物理学的モデルに対して、DNA 修復が高線量域では飽和して起こらなくなる Saturated repair モデルが提唱された。この生物学モデルにより生存率曲線の”肩 “や低線量率効果が、理論的に説明出来ることが Goodhead²⁾により報告されたが未だに実証されてない。そこで我々は放射線照射時の相同組み換え修復能を測定した。その結果、DNA 修復能が照射する放射線線量とともに低下する Saturated repair モデルを支持するデータが得られた。興味深いことに、ヒト細胞で末端再結合が優勢と判断した中・高線量域の放射線照射では相同組み換え修復(HR)が末端再結合(NHEJ)に比べて極度に低下していた³⁾。この結果、従来言われて来たように中・高線量では放射線損傷の修復機構として末端再結合が圧倒的に優勢かもしれないが、低線量ではこの概念が必ずしも正しくないことを示唆している (図2)。

4. 突然変異生成と2種類のDNA修復系

放射線発がんを含めて発がんは遺伝子の異常により起こる。そこで放射線によるDNA損傷と同じくDNA二重鎖切断が発生したときに起こる遺伝子の突然変異の発生を調べた。使用した研究材料は、我々が以前に真下博士と共同研究で作製した

DNA二重鎖切断部位の突然変位 (34ヶ所) における利用された修復系	
末端再結合	: 33
非相同末端再結合	: 26
マイクロホモロジー経由末端再結合	: 7
相同組換え修復	: 1
Mashimo T, et al... Cell Rep. 2:685-94, 2012から解析.	

DNA-PKcs のノックアウトラットである⁴⁾。このラット作製では、DNA-PKcs 遺伝子に部位特異的なDNA二重鎖切断を発生させ、それが再結合されるときに起こる突然変異を利用してDNA-PKcs が不活化したラットを選別する。論文で報告したラット以外に34種類の変異ラットが出来上がっていたので、図1の、末端再結合は1から数塩基のホモロジーを、そして相同組み換えは数十塩基のホモロジーを利用するルールに従って分類すると33突然変異が末端再結合に由来することが分かった(末端再結合はエラープロンの悪い修復)。相同組み換え修復は34突然変異のうちわずか1個で、極端に突然変異の少ない(エラーフリーのよい)修復系であることが分かった(表)。この結果は、中・高線量域の突然変異を低線量域に内挿するとき、予想よりも実際の数値が低くなることを意味している。なぜなら、低線量では中・高線量よりもエラーフリーの相同組み換え修復の寄与が大きくなるからである。

5. 終わりに

下等生物の修復機構は一種類であるので話は単純である。ヒトやマウスでは二種類の修復機構がある。このうち、従来から非相同末端再結合が優勢であるとされてきたが、これについて考え直した方がよい根拠をここで述べた。修復機構の2つとも重要であるとすれ

ば、下等生物と違って話は複雑になり、両修復機構の関係を知らなければ放射線リスクの議論は出来ない。広島・長崎の原爆被ばく者のデータに基づいた疫学研究は強力であるが、低線量の放射線リスク推定については限界がある。放射線生物研究は疫学データで足りない部分を補うことを1つの目標にしているので、この分野の研究進展が今後望まれる。ここでは、そのような放射線生物学研究の課題の一つを取り上げた。

文献

- 1) 小松賢志. DNA 修復とゲノム不安定性、pp151-160、“がん生物学イラストレイテッド”、渋谷正史、湯浅保仁編集、羊土社、2011.
- 2) DT. Goodhead, Saturable repair models of radiation action in mammalian cells. *Radiat Res* 8:S58-67, 1985.
- 3) Y.Saito, M. Ihara, R. Hirayama, A. Kato, J. Kobayashi, K. Komatsu, 日本放射線影響学会、青森、2013年10月19日。
- 4) Mashimo T, Takizawa A, Kobayashi J, Kunihiro Y, Yoshimi K, Ishida S, Tanabe K, Yanagi A, Tachibana A, Hirose J, Yomoda J, Morimoto S, Kuramoto T, Voigt B, Watanabe T, Hiai H, Tateno C, Komatsu K, Serikawa T. Generation and characterization of severe combined immunodeficiency rats. *Cell Reports*, 2:685-94, 2012.