

放射線再生医学研究部門 細胞再生学研究分野研究概況

教	授	田	代	聡
助	手	莊	司	俊益
助	手	孫		継英
大	学	小	野	厚
大	学	落	合	子
大	学	河	野	一輝

当研究分野では、遺伝子複製、転写、修復などの核機能の制御機構と細胞核高次構造の関連を明らかにすることにより、細胞を放射線などの環境ストレスから再生するメカニズムを解明することを主要な研究テーマとしている。

近年、放射線障害におけるヒト細胞のゲノム修復機構に関連する様々な因子が同定され、放射線障害に対するヒト細胞の応答機構について生化学的あるいは遺伝学的解析が飛躍的に進んでいる。しかし、放射線応答において細胞核がどのような構造構築の変化を来すかについては未だ明らかにされていない。したがって、放射線障害などの環境ストレスに対する細胞の再生機構をより深く理解するためには、ストレス誘導後の細胞核高次構造体の局在・動態の変化を検証するという新しい生物学的アプローチが重要であると考えられる。

新しい生物学的アプローチとして、複数の核内ドメインの局在を同一細胞で解析することを可能とするマルチカラー免疫蛍光抗体法の確立を進めている。また、生細胞実験系と紫外線マイクロ照射法を組み合わせたゲノム損傷応答におけるゲノム修復関連蛋白質の動態解析を進めている。さらに、放射線照射による DNA 損傷の修復にはどのような修復因子がクロマチンにリクルートされるか、クロマチン構造はどう変わるか、ヒストンがどのような修飾を受けているかについて、生化学的手法を用いてその制御機構の解明を進めている。一方、環境要因を用いた神経堤障害 Neurocristopathy による異常発生症候群の研究を引き続き進める。

莊司俊益は、共同研究として、徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部発生発達医学講座（福井教授ら）と薬剤など環境要因によるヒトの類似症候群と異常発生機構に関する研究を行っている。また引き続いて非常勤講師として徳島大学大学院医学研究科において大学院生の指導を行っている。

田代 聡は、平成 14 年 4 月より、科学技術振興機構 ERATO 山本環境応答プロジェクトの研究推進委員を委嘱されている。

1. 研究題目：放射線応答に係わる細胞核高次構造のダイナミクス

参加研究者：田代 聡

放射線障害による DNA 二本鎖切断 (DSBs) は細胞にとって致命的であるため、その修復は非常に重要である。DSBs の修復に係わる RAD51 や MRE11 などの蛋白質は、放射線照射後に核内ドメイン (放射線誘発核内フォーカス) を形成することが知られている。一方、ゲノム修復のみならず、複製や転写などの核機能の制御も核内ドメインや染色体 DNA が構築する核高次構造と密接な関係があることが、バイオイメージング技術の進歩により明らかにされつつある。我々は、ゲノム修復、転写と核高次構造の関連を追求してきた。そして、RAD51 が修復の「場」に集積することなどを見出してきた。しかし、修復や細胞死誘導を含めた放射線応答に係わる核内ド

メインの動態や相互関係は未だ不明な点が多い。また、ゲノム損傷を受けた染色体 DNA の局在、動態の変化も十分には解析されていない。そこで、本研究では、

- 1) 放射線応答関連核内ドメインの局在・動態
- 2) ゲノム損傷を含む染色体 DNA の局在・動態

に焦点を当て、放射線応答における細胞核高次構造の動的再構築の解明を進める。

2. 研究題目：核内ドメインの局在・動態制御機構の解明

参加研究者：田代 聡

本研究では、光学顕微鏡レベルでのバイオイメージングを用いて核内ドメインの局在・動態を制御する機構と核機能の関連を検討し、核内ドメインによる核機能統合システムの解明を目指す。

このために、まず核内ドメインの局在・動態を核機能可視化技術および生細胞実験系を用いて解析するとともに、核内ドメイン構成因子の生化学的解析を行い、核内ドメイン形成の「足場」となる共通因子の同定を行う。ついで、核に伝えられる様々な「情報」による核内ドメインの局在・動態変化、および核内ドメイン構成蛋白質の翻訳後修飾など質的・動的変化と核機能の関連を検討する。

3. 研究題目：AML 発症における MLL 遺伝子転座の分子機構の解析

参加研究者：孫 継英 田代 聡

乳児白血病および topoisomerase II (TopoII) 阻害剤による二次性白血病の疾患特異的染色体異常として知られている 11q23 型染色体転座では、MLL 遺伝子が染色体転座により構造異常を来していることが知られている。MLL 遺伝子の転座切断点は、遺伝子内の TopoII コンセンサス配列が集中する 8.3-kbp の bcr 領域に多く認められる。このため、bcr 領域はなんらかの特殊なクロマチン構造をとり、DNA 二本鎖切断の発生および修復に影響していると考えられる。そこで、ヒト白血病細胞株を TopoII 阻害剤処理後、クロマチン免疫沈降法を用いてこの領域のヒストン修飾や DNA 修復タンパク質の結合を解析し、11q23 転座形成分子機構の解明を行う。

4. 研究題目：ヘム結合転写因子 Bach1 によるヘム応答性遺伝子制御の解析

参加研究者：孫 継英 田代 聡 五十嵐 和彦¹⁾(¹⁾東北大学大学院医学系研究科生物化学分野)

赤血球の分化過程ではヘモグロビンが大量に合成されるが、この過程ではヘム合成とグロビン鎖合成とが統合的に制御される。NF-E2 などの転写因子がグロビン遺伝子の制御因子として想定されているが、その機能には多くの謎が残っている。そこで、野生型および bach1 ノックアウトマウスの骨髄と脾臓を分離し、グロビン遺伝子の転写量を定量 RT-PCR 法を用いて測定した。さらに、野生型および bach1 ノックアウトマウス腹腔に phenylhydrazine を投与し溶血性貧血を引き起こし、造血機構の変化を検討した。phenylhydrazine 投与により bach1 ノックアウトマウスは野生型マウスと同程度の溶血性貧血が認められた。末梢血では、両者の間でヘモグロビン量、白血球および赤血球数の差は認められなかったが、bach1 ノックアウトマウスの血小板数は野生型と比べて有意に増加することが判明した。また、bach1 ノックアウトマウス β -major グロビン発現量が軽度減少以外、 α -グロビン、ALAS-E、p45 および GATA1 の発現が野生型との差が認められなかった。

5. 研究題目：環境因子によりヒト DiGeorge・Velocardiofacial (CATCH22) 症候群に類似した動物疾患モデルに関する研究

参加研究者：莊司俊益

被爆者並びに非被爆者の流早死産児と新生児屍を胎齡的に調査することによって剖検を行い多数の奇形症例について遺伝的影響の検討を行った。種々の環境要因を用いて実験的に多臓器の異常発生を多発し、特に心・大血

管系などの異常発生を誘発して、それらの異常の成り立ち方（形態形成）を発生生物学の領域から検討する。その成果を基礎にして動物実験によりヒト DiGeorge・Velocardiofacial（CATCH22）類似した異常発生の神経堤障害疾患モデル（Neurocristopathy 症候群）特に円錐部動脈幹の動脈幹遺残、Fallot 四徴症、大血管転換を含めた先天性心および血管系異常などを高頻度で作成し、それらの異常の成り立ち方の解明を行っている。この実験が成功すれば、更に発生工学的手法を利用して、心大血管系など形成異常やその再生並びに異常発生の形態形成の分子機構を解明しようとするものである。

6. 研究題目：放射線・化学物質など環境因子の次世代異常発生に関する研究

参加研究者：荘司俊益

放射線、化学物質など環境因子が哺乳類の授精・胚発生、胎生期並びに胎仔に及ぼす影響に関連した分野の基礎研究並びに催奇形性のリスク評価などを行なっている。中性子線など放射線実験による心・大血管系異常の各型とその頻度はヒトの先天性心・大血管疾患のそれと極めて類似しているが、化学物質による実験では、特殊の型の異常が見られることが特長である。このことからヒトの心・大血管など異常の形成には自然放射線などの影響が大きいことが示唆される。受精ならびに胚発生の過程にただ1つの小さな異常の発生があっても、それは胎仔の致死や異常発生を招く、致死並びに先天異常の発生には環境並びに個体の遺伝的背景が強く影響されることが考えられる。上記の研究は放射線障害に対する予防治療の開発や異常発生並びに発がんの発生機構の解明を試みる。

A. 原 著

1. Toki T^{*1}, Katsuoka F^{*1}, Kanezaki R^{*1}, Xu G^{*1}, Kurotaki H^{*1}, Sun J, Kamio T^{*1}, Watanabe S^{*1}, Tandai S^{*1}, Terui K^{*1}, Yagihashi S^{*1}, Komatsu N^{*1}, Igarashi K^{*2}, Yamamoto M^{*3}, Ito E^{*1} (*¹Hirosaki Univ., *²Dept. Biomed. Chem., *³Tsukuba Univ.) Transgenic expression of Bach1 transcription factor results in megakaryocytic impairment. *Blood*. 105(8): 3100-8. 2005
2. Fujiwara T^{*1}, Harigae H^{*1}, Takahashi S^{*1}, Furuyama K^{*1}, Nakajima O^{*2}, Sun J, Igarashi K^{*3}, Yamamoto M^{*4}, Sassa S^{*5}, Kaku M^{*1}, Sasaki T^{*1}. (*¹Tohoku Univ., *²Ymagata Univ., *³Dept. Biomed. Chem., *⁴Tsukuba Univ., *⁵Rockefeller Univ.) Differential gene expression profiling between wild-type and ALAS2-null erythroblasts: identification of novel heme-regulated genes. *Biochem Biophys Res Commun*. 340(1): 105-10. 2006
3. Dohi Y^{*1}, Alam J^{*2}, Yoshizumi M^{*3}, Sun J, Igarashi K^{*1}. (*¹Dept. Biomed. Chem., *²Louisiana State Univ. *³Dept. Cardiovascul. Physiol.) Oxygenase-1 Gene Enhancer Manifests Silencing Activity in a Chromatin Environment Prior to Oxidative Stress. *Antioxid Redox Signal*. 8(1-2):60-67. 2006
4. Igarashi K^{*1}, Sun J. (*¹Dept. Biomed. Chem.) The heme-bach1 pathway in the regulation of oxidative stress response and erythroid differentiation. *Antioxid Redox Signal*. 8(1-2): 107-18. 2006
5. Tashiro S, Cremer M^{*}, Solovei I^{*}, Cremer T^{*}. (*Ludwig Maximilians Univ.) Nuclear architecture: Topology and function of chromatin and non-chromatin nuclear domains. In "Nuclear dynamics: Approaches from biochemistry, molecular cell biology and visual biology". Springer Inc. (in press)
6. 小野 厚, 五十嵐和彦, 田代聡: 分子標的療法薬 imatinib による慢性骨髄性白血病治療とその問題点. 健康管理と臨床検査. (神部眞之, 渡辺清明編), pp247-250, 宇宙堂八木書店, 東京, 2005.

B. 学会発表

1. 田代 聡：マルチカラー蛍光抗体法を用いた核内ドメイン局在解析. 第5回核ダイナミクス研究会. 箱根, 2005. 5.
2. 田代 聡：ゲノム修復と核高次構造ダイナミクス. 第46回原子爆弾後障害研究会. 広島, 2005. 6.
3. 田代 聡, 井倉 毅, 神谷研二：DNA 損傷におけるヒストン H2AX のダイナミクス. 第64回日本癌学会学術総会, 札幌, 2005. 9. (A, R)
4. 田代 聡, 河野和輝, 原野由美, 武藤哲彦, 星野英人, 吉田 稔, 五十嵐和彦：SUMO 修飾による転写因子 Bach2 の局在および機能制御. 第67回日本血液学会総会・第47回日本臨床血液学会総会血液学会. 横浜, 2005. 9.
5. Tashiro, S.: Characterization of interchromatin compartment. 第78回日本生化学会大会. 神戸, 2005. 10.
6. Tashiro, S.: Characterization of Interchromatin Compartment. International Symposium on Ran and Cell Cycle. Awaji, 2005. 10.
7. 田代 聡：ゲノム修復関連核内ドメインのダイナミクス. 日本放射線影響学会 48 回大会. 広島, 2005. 11.
8. 河野一樹, 田代 聡, 原野由美, 五十嵐和彦：SUMO 化による転写因子 Bach2 の動態および機能制御. 第28回日本分子生物学会年会, 福岡, 2005. 12.
9. 田代 聡：マルチカラー免疫蛍光抗体法を用いた核内ドメイン局在解析. 第23回染色体ワークショップ. 広島, 2006. 1.
10. Tashiro, S., Miyagawa, K., Ikura, T., Igarashi, K.: Dynamics of higher order nuclear architecture upon DNA damage. The 3rd International Symposium of Hiroshima University 21st Century COE Program, DNA Damage Response and Cancer. Hiroshima, 2006. 2.
11. Shoji, S., Sawada, K.¹, Shoji, I.², Azad MD. AK¹, Fukui, Y.¹ and Tashiro, S. (¹Department of Anatomy and Developmental Neurobiology, School of Medicine, University of Tokushima, Japan. ²College of Medicine and Public Health, The Ohio State University, USA) Conotruncal Anomalies and Neurocristopathy Following Maternal Excess Tretinoin Exposure. Teratology Society 45th Annual Meeting at Trade Winds Island Grand Resort, St. Pete Beach, Florida, USA. June 25-30, 2005. (Birth defects res. A: Clinical and Molecular Teratology 73 (5), 361, 2005) (A, R)
12. 莊司 俊益, 澤田 和彦¹, Shoji Isao², Azad MD. AK¹, 福井 義浩¹, 田代 聡 (¹徳島大 大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 医学部 ²College of Medicine and Public Health, The Ohio State University, USA) ガンマ線照射並びに Tretinoin 投与による円錐動脈幹異常と神経堤障害症候群. 日本放射線影響学会第48回大会・第1回アジア放射線研究会議, 広島. 2005. 11. 15-17 (和文抄録 pp.116 英文抄録 pp.121)

C. その他

1. 田代 聡, 島 弘季：マルチカラー免疫蛍光抗体法を用いた核内ドメイン局在解析. 細胞核ダイナミクス第2回班会議. 京都. 2005. 11.