

I. 研究概況

ゲノム障害制御研究部門

放射線ゲノム学研究分野研究概況

教 授	松 浦 伸 也
助 手	泉 秀 樹
助 手	森 島 賢 一
研 究 員	須 田 哲 司 (平成17年4月～)
大 学 院 生	松 本 祥 幸
研 究 生	松 本 浩 ^{*1}

^{*1} 自衛隊呉病院

当研究分野は、染色体不安定性を特徴とするヒト高発がん性遺伝病の病因・病態の解明を通して、発がんに関わるゲノム損傷修復機構ならびに染色体維持機構を分子レベルで究明することを目標としている。現在、種々の放射線高感受性遺伝病について解析するとともに、姉妹染色分体早期解離を特徴とする PCS 症候群について染色体分配異常のメカニズム解明に取り組んでいる。現在、進行している主な研究テーマは次の通りである。

1. PCS 症候群の病因および病態の解明
2. 中心体複製機構に関する分子遺伝学的研究
3. TopBP1 の DNA 損傷部位への局在機構
4. 放射線高感受性遺伝疾患の原因遺伝子の同定
5. ウェルナー症候群バリエーションの細胞遺伝学的解析
6. SLO 症候群の遺伝子解析

教授松浦伸也は、21 世紀 COE プログラム「放射線災害医療開発の先端的研究教育拠点」の事業推進担当者として研究活動を行った。教育面では、医歯薬学総合研究科の講義を以下の通り分担した。1) 博士課程「シグナル伝達の分子基盤」、2) 博士課程「医学自然科学における放射線」、3) 修士課程「細胞の分子生物学」、4) 修士課程「基礎放射線医学」。さらに、5) 医学部および歯学部2年次生の「発生遺伝学（人類遺伝学）」の講義を担当するとともに、6) 「放射線生物学」の講義を分担した。「広島大学医学部倫理委員会ヒトゲノム研究倫理審査委員会」の外部実施調査を担当した。Cancer Science と Cancer Research の論文査読を行った。平成 17 年度広島大学公開講座「健康と新しい生命科学」で講演を行った（平成 17 年 6 月 30 日）。また、周南小児科医会主催の講演会で「高発がん性遺伝病と染色体維持機構」について講演した（平成 18 年 1 月 19 日）。

泉秀樹助手は、紡錘体チェックポイント蛋白 BubR1 の中心体複製への関与について研究を行った。また、第 12 回臨床細胞遺伝学セミナーで「中心体複製機構と染色体異数性との関連」の招待講演を行った（平成 17 年 8 月 28 日）。森島賢一助手は TopBP1 の機能解析の研究に従事した。

新研究スタッフとして須田哲司氏が平成 17 年 4 月に研究員として着任し、ゲノム不安定性の研究に従事した。松

本祥幸氏は医歯薬学総合研究科修士課程を修了して医科学修士を取得した。松本浩医師（自衛隊呉病院）は、昨年に引き続き染色体不安定症候群の病因解明の研究に従事した。城多恵子技官は遺伝子・染色体解析の研究を支援するとともに、今年度から教室の事務方を担当した。池田宏美 COE 技術者は平成 17 年 10 月で退職し、その後任として畠山浩美女史が採用された。

1. 研究題目：PCS 症候群の病因および病態の解明

研究参加者：松本祥幸，池内達郎（東京医科歯科大），梶井 正（八王子），松浦伸也

染色分体早期解離（PCS）症候群は先天性の紡錘体形成チェックポイント欠損症である。患者由来の細胞は染色体分析で姉妹染色分体が高頻度に解離した premature chromatid separation（PCS）と多彩な異数性モザイクを示す。臨床的に小頭症・発達遅滞・Dandy - Walker 奇形・Wilms 腫瘍の合併を特徴とする。私たちは日本人 7 例について BUB1B 遺伝子の変異解析を行った。その結果、7 例すべてに BUB1B のヘテロな変異を同定した（一塩基欠失によるフレームシフト変異、スプライス変異およびアミノ酸置換）。しかしながら 7 例とも片側のアレルには変異は検出されなかった。そこで BUB1B 遺伝子近傍のハプロタイプ解析を行ったところ、変異の検出されないアレルはほぼ共通のハプロタイプを示すことが判明した。さらに変異の検出されないアレルは BubR1 蛋白（BUB1B 遺伝子産物）の発現量が低下していることがわかった。以上より、PCS 症候群の分裂期紡錘体チェックポイント異常は BubR1 の発現が正常の 50% 以下に低下することが原因であることを証明した。現在、BubR1 発現を低下させる原因遺伝子変異を明らかにするため、さらに詳しく遺伝子解析を進めている。

2. 研究題目：中心体複製機構に関する分子遺伝学的研究

研究参加者：泉秀樹，松本祥幸，松浦伸也

中心体は動物細胞の核近傍に局在する非膜性の細胞内小器官である。細胞周期の間期において、中心体は微小管形成中心（MTOC）として細胞内の極性を維持し、分裂期には紡錘体極となり娘細胞への均等な染色体分配に深く関わっている。中心体は細胞周期と同調して DNA 合成期（S 期）に複製するが、中心体複製は DNA 複製と同様、一細胞周期においてただ一度だけ起こるように厳密にコントロールされている。中心体複製機構がみだれ一細胞周期において複数回中心体複製が起きると、分裂期に多極性の紡錘体極が形成されることになり染色体が不均等に分配され多くは分裂死を起こすが、この中から悪性度の高い細胞が出現してくる可能性があり、実際、多くのヒト癌細胞で中心体の過剰複製が観察されている。現在、中心体の複製開始機構については次第に明らかになってきているが、一度複製した中心体が一細胞周期において再び複製しないように制御するメカニズム（中心体再複製抑制機構）については明らかになっていない。本研究では中心体の再複製を抑制する遺伝子を細胞工学的に探索することを目的としている。これまでに、マウス A9 細胞にヒト染色体を 1 本導入した細胞を用いて、A9 細胞の中心体過剰複製を抑制する活性を有するヒト染色体をスクリーニングした。その結果、いくつかのヒト染色体が中心体過剰複製抑制活性を持つことを見出した。現在、これらのヒト染色体について、活性を有する染色体上の部位の限局化を Radiation hybrid mapping 法により進めている。さらに、これと並行して、ヒトゲノムデータベースを用いて、活性を有する染色体上に中心体複製に関与する可能性がある遺伝子の探索を進めている。

3. 研究題目：TopBP1 の DNA 損傷部位への局在機構

研究参加者：森島賢一，小林純也（京都大），小松賢志（京都大），田内広（茨城大），松浦伸也

TopBP1 は出芽酵母 Dpb11 / 分裂酵母 Rad5 / Cut5 のヒトホモログである。出芽酵母や分裂酵母の機能解析により DNA 修復や DNA 複製開始に関与することが示されている。最近、TopBP1 が放射線照射後の DNA 損傷部位にフォーカスを形成することが報告された。我々は TopBP1 の DNA 損傷部位への局在機構について研究を進めてきた。これまでに TopBP1 は NBS1 非リン酸化型変異をもつ細胞や ATM 欠損細胞では正常にフォーカ

スが形成されないことを見出した。さらに TopBP1 ノックダウン細胞では ATR 欠損細胞で特徴的な premature chromatid condensation が高頻度に誘発されることを明らかにした。以上の結果から、TopBP1 は ATM / NBS1 依存的に DNA 損傷部位に集積し、ATR 活性を制御して DNA 修復に関わっていることが示唆された。

4. 研究題目：放射線高感受性遺伝疾患の原因遺伝子の同定

研究参加者：須田哲司，泉秀樹，藤本浩子（京都大），小松賢志（京都大），松浦伸也

これまでに我々は複合型免疫不全を示す染色体断裂症候群の日本人女児を報告した。患者は重度の小頭症と発達遅滞を示し、悪性リンパ腫を発症した。患者の皮膚線維芽細胞は放射線に高感受性を示し、臨床所見がナイミーヘン症候群に類似していたことから、患者はナイミーヘン症候群が疑われたが、NBS1, Mre11, Rad50 のタンパク発現およびフォーカス形成に異常は認められなかった。そこで患者由来皮膚線維芽細胞株を樹立し、微小核細胞融合法によるヒト染色体移入技術を利用して、放射線感受性を指標に機能的相補性試験を行った。その結果、患者細胞株は 13 番染色体を移入した際に放射線高感受性が相補されることが判明した。13 番染色体には非同末端再結合（NHEJ）に関与する DNA Ligase IV（LIG4）が存在するため LIG4 遺伝子を解析したところ、biallelic な変異を同定した。本患者は日本で初めての LIG 4 症候群であることが明らかとなった。

5. 研究題目：ウェルナー症候群バリエントの細胞遺伝学的解析

研究参加者：松本浩，松本祥幸，松浦伸也

我々はこれまでに、ウェルナー症候群の臨床バリエントと考えられる 13 歳男児から不死化線維芽細胞株を樹立した。患者は高度（-8SD）の低身長を示し、末梢血リンパ球の染色体検査で Variegated translocation mosaicism（VTM）が多数観察された。SCE 頻度はコントロールのほぼ 2.5 倍で、Rothmund - Thomson 症候群に特徴的な染色体異常を持つクローナルな細胞集団の増加は見られなかった。以上より本疾患はウェルナー症候群に類似した新しい染色体不安定症候群であることが考えられた。現在、RecQ ヘリケース遺伝子について変異スクリーニングを行うとともに、DNA 修復能および薬剤感受性の有無を検討している。

6. 研究題目：SLO 症候群の遺伝子解析

研究参加者：松本祥幸，塚原正人（山口大），松浦伸也

Smith-Lemli-Opitz（SLO）症候群は常染色体劣性の稀な遺伝病で、コレステロール前駆物質 7-dehydrocholesterol（7-DHC）をコレステロールに変換する酵素 7-DHC reductase（DHCR7）の欠損症である。臨床的に小頭症・第 2 および 3 趾の皮膚性合趾・外性器異常・特異顔貌・口蓋裂を特徴とする。日本人 7 家系を収集して DHCR 7 遺伝子について変異解析を行って 7 家系すべてに一塩基置換を同定した。R352Q 変異が 7 家系に共通して見られたことから、R352Q 変異が日本人 SLO 症候群の創始者変異であることが明らかとなった。

A. 原 著

1. Matsuura, S., Matsumoto, Y., Morishima, K., Izumi, H., Matsumoto, H., Ito, E., Tsutsui, K., Kobayashi, J.^{*1}, Tauchi, H.^{*2}, Kajiwara, Y.^{*3}, Hama, S.^{*3}, Kurisu, K.^{*3}, Tahara, H.^{*4}, Oshimura, M.^{*5}, Komatsu, K.^{*1}, Ikeuchi, T.^{*6}, Kajii, T.^{*7}. (^{*1}Radiat. Biol. Center, Kyoto Univ., ^{*2}Faculty of Sci., Ibaraki Univ., ^{*3}Dept. Neurosurgery, Hiroshima Univ., ^{*4}Dept. Cell. Mol. Biol., Hiroshima Univ., ^{*5}Dept. Mol. Cell. Biol., Tottori Univ., ^{*6}Div. Genet., M. R. I., Tokyo Med. Dent. Univ., ^{*7}Hachioji): Monoallelic BUB1B mutations and defective mitotic-spindle checkpoint in seven families with premature chromatid separation(PCS)syndrome. Am. J. Med. Genet. 104A: 358-367, 2006.(R)(G)(I)
2. Matsumoto, Y., Morishima, K., Honda, A.^{*1}, Watabe, S.^{*2}, Yamamoto, M.^{*2}, Hara, M.^{*3}, Hasui, M.^{*4}, Saito, C.^{*5},

Takayanagi, T. ^{*6}, Yamanaka, T. ^{*7}, Saito, N. ^{*8}, Kudo, H. ^{*9}, Okamoto, N. ^{*10}, Tsukahara, M. ^{*2}, Matsuura, S. (^{*1}Dept. Gastroenterol. Univ. of Tsukuba, ^{*2}Faculty Health Sci., Yamaguchi Univ., ^{*3}General Isotope Cent., Tokyo Med. Dent. Univ., ^{*4}Hasui Pediat. Clinic, ^{*5}Dept. Psychiatr. Nat. Sanatorium Hokuriku Hosp., ^{*6}Dept. Pediatr., Nat. Saga Hosp., ^{*7}Dept. Hum. Welfare, Okazaki Women's Junior College, ^{*8}Shin-Koga Hosp., ^{*9}Asahigawasou Ryoiku Cent. Ryoikuen, ^{*10}Osaka Med. Cent. Res. Inst. Maternal Child Health): R352Q mutation of the DHCR7 gene is common among Japanese Smith-Lemli-Opitz syndrome patients. J. Hum. Genet. 50: 353-356, 2005.(G)(I)

3. Suda T. ^{*1}, Katoh M. ^{*1}, Hiratsuka M. ^{*1}, Takiguchi M. ^{*2}, Kazuki Y. ^{*2}, Inoue T. ^{*1}, Oshimura M. ^{*1,2}. (^{*1}Dept. Hum. Genome Sci., Tottori Univ., ^{*2}Dept. Biomed. Sci., Institut. of Regenerative Med. Biofunction, Tottori Univ.): Heat-regulated production and secretion of insulin from a human artificial chromosome vector. Biochem. Biophys. Res. Commun., 340: 1053-61, 2006.(I)

その他

1. 泉秀樹：中心体複製機構と染色体異数性との関連 第12回臨床細胞遺伝学セミナーテキスト pp.89-100, 2005.

B. 学会発表

1. 松浦伸也, 松本祥幸, 森島賢一, 泉秀樹, 田内広^{*1}, 小林純也^{*2}, 小松賢志^{*2}, 池内達郎^{*3}, 梶井正^{*4}: (^{*1}茨城大・理, ^{*2}京都大・放生研・ゲノム動態, ^{*3}東京医科歯科大・難治研・分子細胞遺伝, ^{*4}八王子): 染色分体早期解離 (PCS) 症候群7家系の BUB1B 遺伝子変異とその機能解析 第50回日本人類遺伝学会, 倉敷, 2005, 9月19 - 22日 (G)
2. 池内達郎^{*1}, 吉田光明^{*2}, 織田信弥^{*3}, 向井裕幸^{*4}, 横森欣司^{*5}, 沼部博直^{*6}, 松浦伸也, 梶井正^{*7}: (^{*1}東京医科歯科大・難治研・分子細胞遺伝, ^{*2}放医研・緊急被曝医療センター, ^{*3}国立病院九州がんセンター, ^{*4}エフエムエルラボラトリー, ^{*5}日赤医療センター, ^{*6}東京医科大学病院, ^{*7}八王子) PCS (染色分体早期解離) 症候群における染色体不安定性と高発がん性について 第50回日本人類遺伝学会, 倉敷, 2005, 9月19 - 22日
3. 森島賢一, 小林純也^{*1}, 田内広^{*2}, 小松賢志^{*1}, 松浦伸也 (^{*1}京都大・放生研・ゲノム動態, ^{*2}茨城大・理): DNA 修復における TopBP1 の機能解析 第64回日本癌学会学術総会, 札幌, 2005, 9月14 - 16日 (R) (G)
4. 坂本修一^{*1}, 田内広^{*2}, 小林純也^{*1}, 勅使河原計介^{*3}, 松浦伸也, 小松賢志^{*1} (^{*1}京都大・放生研・ゲノム動態, ^{*2}茨城大・理, ^{*3}リンパ球バンク): ナイミーヘン症候群蛋白質 NBS1 の相同組換え修復における作用機構 第64回日本癌学会学術総会, 札幌, 2005, 9月14 - 16日
5. 松浦伸也, 森島賢一, 泉秀樹, 小林純也, 田内広^{*1}, 小松賢志^{*2}, 池内達郎^{*3}, 梶井正^{*4} (^{*1}茨城大・理, ^{*2}京都大・放生研・ゲノム動態, ^{*3}東京医科歯科大・難治研・分子細胞遺伝, ^{*4}八王子): 高発がん性を示す染色分体早期解離 (PCS) 症候群: BUB1B 遺伝子変異とその機能解析 第64回日本癌学会学術総会, 札幌, 2005, 9月14-16日 (G)
6. 田内広^{*1}, 小林純也^{*2}, 坂本修一^{*2}, 松浦伸也, 小松賢志^{*2} (^{*1}茨城大・理, ^{*2}京都大・放生研・ゲノム動態): NBS1 が制御する損傷チェックポイントならびにアポトーシス経路 第64回日本癌学会学術総会, 札幌, 2005, 9月14-16日

7. 小林純也^{*1}, 田内広^{*2}, 坂本修一^{*1}, 森島賢一, 田代聡^{*3}, 松浦伸也, 小松賢志^{*1} (^{*1} 京都大・放生研・ゲノム動態, ^{*2} 茨城大・理, ^{*3} 広島大・原医研): DNA 損傷応答における γ -H2AX と ATM の機能的相互作用 第 64 回日本癌学会学術総会, 札幌, 2005, 9 月 14-16 日
8. 小松賢志^{*1}, アントシア アントニオ^{*2}, 坂本修一^{*1}, 中村恭介^{*1}, 勅使河原計介^{*3}, 小林純也^{*1}, 松浦伸也, 田内広^{*4} (^{*1} 京都大・放生研・ゲノム動態, ^{*2} ローマ第三大学, ^{*3} リンパ球バンク, ^{*4} 茨城大・理): 放射線照射後の NBS1 / ATM の協調的チェックポイント制御と相同組換え修復の非依存性 第 48 回日本放射線影響学会, 広島, 2005, 11 月 15-17 日
9. 松本祥幸, 泉秀樹, 森島賢一, 小林純也^{*1}, 田内広^{*2}, 小松賢志^{*1}, 池内達郎^{*3}, 梶井正^{*4}, 松浦伸也 (^{*1} 京都大・放生研・ゲノム動態, ^{*2} 茨城大・理, ^{*3} 東京医歯大・難治研・分子細胞遺伝, ^{*4} 八王子): PCS 症候群 7 家系の遺伝子解析 第 48 回日本放射線影響学会, 広島, 2005, 11 月 1-17 日 (G)
10. 中村恭介^{*1}, 坂本修一^{*1}, 小林純也^{*1}, 田内広^{*2}, 勅使河原計介^{*3}, 松浦伸也, 小松賢志^{*1} (^{*1} 京都大・放生研・ゲノム動態, ^{*2} 茨城大・理, ^{*3} リンパ球バンク): 相同組換え修復における NBS1 と BRCA1 / BRCA2 の機能的関連性 第 48 回日本放射線影響学会, 広島, 2005, 11 月 15-17 日
11. 森島賢一, 坂本修一^{*1}, 小林純也^{*1}, 田内広^{*2}, 小松賢志^{*1}, 松浦伸也 (^{*1} 京都大・放生研・ゲノム動態, ^{*2} 茨城大・理): ナイミーヘン症候群細胞における DNA 損傷後の TopBP1 レスポンス 第 48 回日本放射線影響学会, 広島, 2005, 11 月 15-17 日 (R) (G)
12. 大石晶子^{*1}, 飯島健太^{*1}, 坂本修一^{*2}, 小林純也^{*2}, 松浦伸也, 小松賢志^{*2}, 一政祐輔^{*1}, 田内広^{*1} (^{*1} 茨城大・理, ^{*2} 京都大・放生研・ゲノム動態): DNA 二重鎖切断の相同組換え修復における NBS1 の機能ドメイン 第 48 回日本放射線影響学会, 広島, 2005, 11 月 15-17 日
13. 小林純也^{*1}, 田内広^{*2}, 森島賢一, 松浦伸也, 小松賢志^{*1} (^{*1} 京都大・放生研・ゲノム動態, ^{*2} 茨城大・理): 放射線誘導 DNA 損傷応答における γ -H2AX と ATM の機能的相互作用 第 48 回日本放射線影響学会, 広島, 2005, 11 月 15-17 日
14. 須田哲司, 泉秀樹, 藤本浩子^{*1}, 森島賢一, 山田雅文^{*2}, 小林邦彦^{*2}, 小林純也^{*1}, 田内広^{*3}, 小松賢志^{*2}, 松浦伸也 (^{*1} 京都大・放生研・ゲノム動態, ^{*2} 北海道大・小児科, ^{*3} 茨城大・理・地球生命環境科学): 放射線高感受性遺伝病患者細胞の相補性試験と原因遺伝子の同定. 第 48 回日本放射線影響学会 広島, 2005, 11 月 15-17 日 (R) (G)
15. 小林純也^{*1}, 田内広^{*2}, 森島賢一, 松浦伸也, 小松賢志^{*1} (^{*1} 京都大・放生研・ゲノム動態, ^{*2} 茨城大・理): ATM 依存性 DNA 損傷応答における γ -H2AX の役割 第 28 回日本分子生物学会年会 福岡 2005, 12 月 7-10 日
16. 飯島健太^{*1}, 小林純也^{*2}, 村中千寿子^{*1}, 坂本修一^{*2}, 望月大輔^{*1}, 石崎寛治^{*3}, 松浦伸也, 小松賢志^{*2} (^{*1} 茨城大・理, ^{*2} 京都大・放生研・ゲノム動態, ^{*3} 愛知がんセンター): NBS1 による DNA 損傷誘発アポトーシスの制御 第 28 回日本分子生物学会年会 福岡 2005, 12 月 7-10 日
17. 須田哲司^{*1}, 平塚正治^{*1}, 加藤基伸^{*1}, 滝口正人^{*2}, 香月康宏^{*2}, 井上敏昭^{*1}, 押村光雄^{*1,2}. (^{*1} 鳥取大・院医・ゲノム医工学, ^{*2} 鳥取大・院医・機能再生・遺伝子機能工学): ヒト人工染色体ベクター上に構築した HSP70 プロモーター制御下インスリン発現ユニットのヒートショック誘導的発現. 第 28 回日本分子生物学会, 福岡,

2005, 12月7-10日.

18. 松本祥幸, 森島賢一, 泉秀樹, 筒井啓介, 小林純也^{*1}, 田内 広^{*2}, 小松賢志^{*1}, 池内達郎^{*3}, 梶井 正^{*4}, 松浦伸也 (^{*1} 京都大・放生研センター・ゲノム動態, ^{*2} 茨城大・理・地球環境, ^{*3} 東京医科歯科大・難治研・分子細胞遺伝, ^{*4} 八王子): 日本人姉妹染色体分体早期解離 (PCS) 症候群 7 例の遺伝子解析 第 46 回原子爆弾後障害研究会 広島, 2005, 6月6日 (G)
19. Suda T., Izumi H., Fujimoto H.^{*1}, Morishima K., Yamada M.^{*2}, Kobayashi K.^{*2}, Kobayashi J.^{*1}, Tauchi H.^{*3}, Komatsu K.^{*1}, Matsuura S..(^{*1}Rad. Biol. Center, Kyoto Univ., ^{*2}Department of Pediatrics, Hokkaido Univ., ^{*3}Faculty of Sci., Ibaraki Univ.): Identification of novel DNA ligase IV mutations in a Japanese patient with radiohypersensitivity. The Third International Symposium DNA Damage Response and Cancer, Hiroshima, February 1-2, 2006(R)(G)
20. Morishima, K., Sakamoto, S.^{*1}, Kobayashi, J.^{*1}, Tauchi, H.^{*2}, Komatsu, K.^{*1}, Matsuura, S.(^{*1}Rad. Biol. Center, Kyoto Univ., ^{*2}Faculty of Sci., Ibaraki Univ.): Involvement of TopBP1 in homologous recombination repair. The Third International Symposium DNA Damage Response and Cancer, Hiroshima, February 1-2, 2006(R)(G)

注) 原著, 学会発表の文末記号の (R) は放射線実験系施設を用いた研究, (A) は放射線照射動物実験系施設を用いた研究, (G) は遺伝子実験系施設を用いた研究, (C) は国際放射線情報センター関連の研究, (I) はカレントコンテンツにリストされた論文の略号です.