

“今こそ復習！”主任者の基礎知識 —「もっと基礎を，ここが肝」編—

第2回 放射線による DNA 損傷と細胞応答

泉 雅子

放射線の生物影響の研究は、19世紀末のW.C.レントゲンによるX線の発見や、A.H.ベクレルやM.キュリーによる放射性物質の発見に始まる。当時から、放射線の被ばくにより火傷や脱毛が誘発されることは知られていたが、こうした現象を分子レベルで説明できるようになったのは、ここ20年ほどの分子生物学の進展によるところが大きい。本稿では、放射線によるDNAの損傷と細胞応答について、最近の研究成果を交えて解説する。

放射線の生物効果とDNA損傷の種類

放射線による生物に対する影響は、放射線がDNAに損傷を与えることにより引き起こされる。その際、放射線が直接DNA分子の電離や励起を引き起こして損傷を与える場合（直接作用）と、生体の約70%を占める水を介してDNAに損傷を与える場合（間接作用）とがある^{1,2)}。放射線が水分子の電離や励起を引き起こすと、水酸化ラジカル、水素ラジカル、水和電子、過酸化水素など反応性に富むラジカルや分子が生成され、DNAと反応して直接作用と同様の損傷を与える。X線、 γ 線、電子線では間接作用の寄与が60~80%を占めるが、陽子線、中性子線、 α 線では直接作用の寄与の割合が高くなる^{1,2)}。

DNAは、糖・リン酸・塩基から構成される。糖とリン酸は交互に結合してDNAの主鎖を成し、2本の主鎖から突き出したアデニン、グアニン、シトシン、チミンの4種類の塩基が水素結合で対を作ることにより二本鎖構造を形成する（図1）。放射線により、DNA上には塩基損

傷、塩基脱落、DNA鎖切断など様々な損傷が作られる^{1,2)}（図1, 2）。塩基損傷は、塩基の酸化や二重結合の切断などが起きて分子が化学変化したもので、100種類以上の塩基損傷が報告されている。また、塩基と糖の間の化学結合が切れると、塩基が脱落する。あるいは、DNA鎖の骨格である糖やリン酸が損傷を受けるとDNA鎖の切断が起こるが、二本鎖の片側だけに切断が起こるケース（DNA一本鎖切断）と、両側が切断されるケース（DNA二本鎖切断）とがある。ヒトの細胞に1 GyのX線を照射すると、1細胞当たり数百個の塩基損傷、約千個のDNA一本鎖切断、約40個のDNA二本鎖切断を生じる^{3,4)}。

生物は、宇宙放射線や、地表・空気・食物に含まれる放射性物質に由来する放射線に絶えず曝されている。また、生体内では、酸素呼吸をはじめとする様々な代謝反応により活性酸素が常に発生しており、放射線を被ばくしたときと同様の損傷がDNAに生じている⁵⁾。そこで様々なタイプのDNA損傷に対応するために、生物

は複数の修復機構を進化の過程で獲得してきた⁵⁾。以下に、放射線によるDNA損傷修復に関わる主要な修復機構について紹介する。

塩基除去修復機構

ヒトでは、放射線により生じる損傷のうち、塩基損傷、塩基脱落、DNA一本鎖切断は塩基除去修復と呼ばれる共通の経路で修復される(図1)^{6,7)}。まず、化学変化した異常な塩基はDNAグリコシラーゼと呼ばれる塩基と糖の間を切断する酵素により認識され、取り除かれる。次に、塩基が脱落した部位のDNAの主鎖に、APエンドヌクレアーゼ、エキソヌクレア

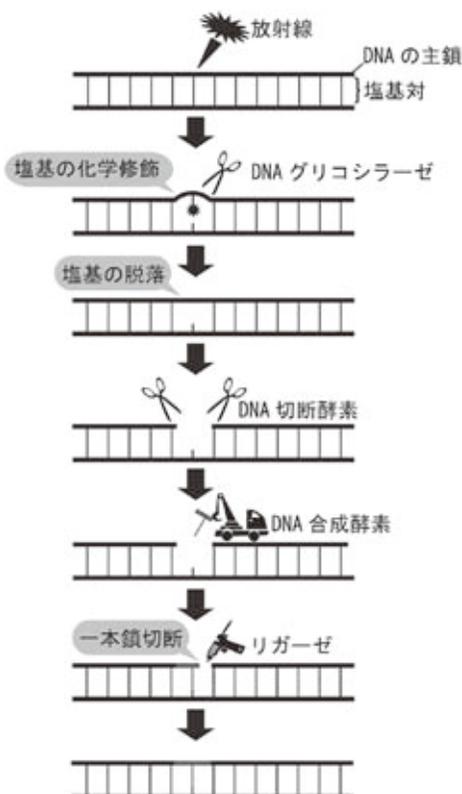


図1 塩基除去修復機構 (文献7)より改変して転載)

ーゼというDNA鎖を切断する2種類の酵素が働き、この部位のDNA鎖を完全に取り除く。こうして一本鎖DNAが露出したところへDNA合成酵素が呼び込まれ、損傷を受けていない方のDNA鎖を鋳型にして相補鎖を合成する。最後に、DNAリガーゼと呼ばれるDNA鎖を繋げる酵素が働いて、DNA鎖の切断部分を修復する。

生体内で生じた塩基損傷や塩基脱落は、ほとんどの場合は正しく修復されるが、時として突然変異を引き起こす。例えば、化学変化を起こした塩基の中には、本来対合しない塩基と対合できるものがある。グアニンが酸化して生じる8-オキシグアニンは、本来グアニンが対合するシトシン以外に、アデニンとも対合するので、修復が行われないうま DNA複製反応が起きると、突然変異が生じることがある。また、塩基が脱落したままDNA複製反応が起きると、DNA合成酵素が適当な塩基を脱落部分に挿入してしまうので、突然変異を生じることがある。

DNA二本鎖切断修復機構

DNA二本鎖切断は、前記の塩基除去修復とは全く異なる経路により修復される(図2)^{5,8)}。DNA二本鎖切断は、塩基除去修復のようにDNAの相補鎖を鋳型にして修復することができないので、その修復経路は複雑でより多くのタンパク質を必要とする。また、塩基損傷・塩基脱落・DNA一本鎖切断とは異なり、DNA二本鎖切断は、ヒトでは細胞内に1か所でも存在すると細胞分裂が停止し、最終的には染色体異常や細胞死に至る最も重篤な損傷である。実際に、放射線の生物影響はDNA二本鎖切断の頻度とその修復効率に大きく依存する。

DNA二本鎖切断の修復経路には2種類ある(図2)。1つは非同相末端結合と呼ばれる経路

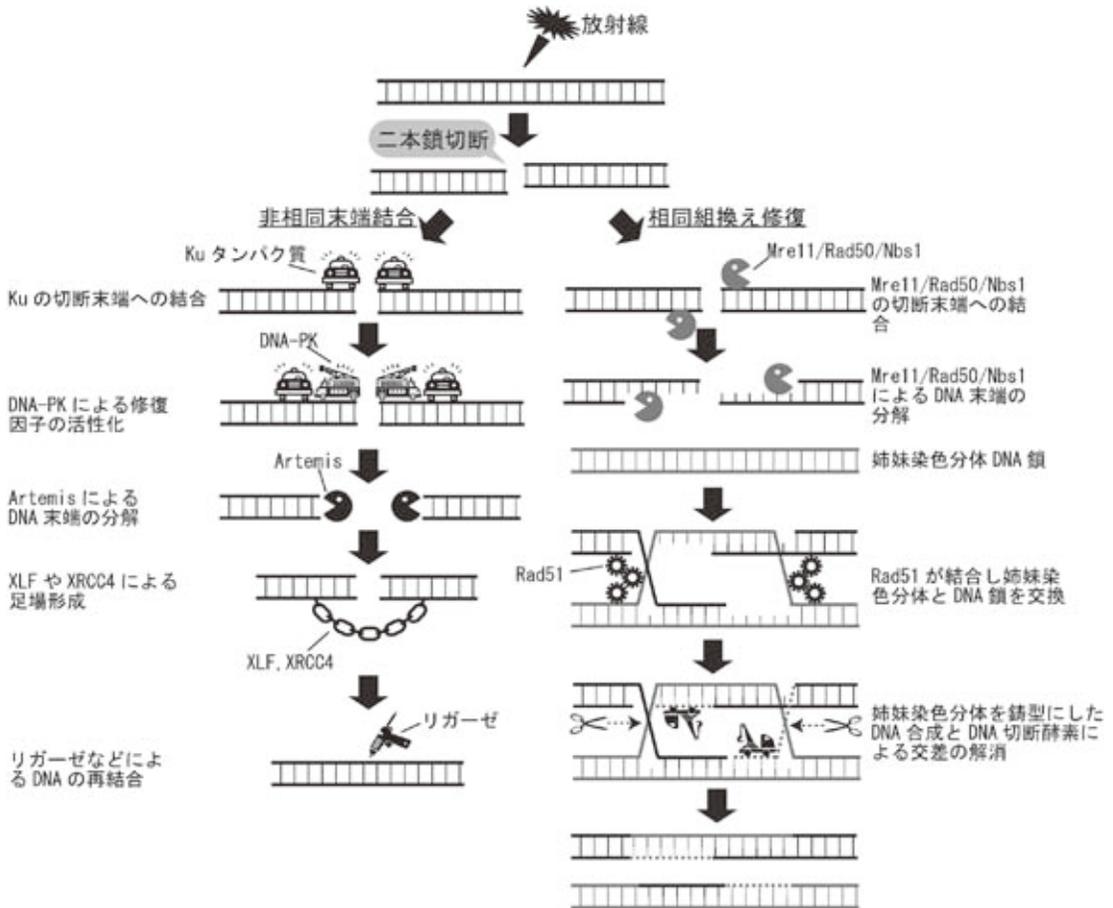


図2 DNA二本鎖切断修復機構 (文献8)より改変して転載)

で、末端の損傷部位を取り除いて再結合させる方法である。まず、切断したDNAの端へDNA末端を認識するKuタンパク質が結合し、そこへDNA-依存性タンパク質リナーゼ(DNA-PK), Artemis, XLF, XRCC4など複数のタンパク質が逐次的に呼び込まれる。DNA-PKは集まった修復タンパク質を活性化して、修復反応を促す。また、ArtemisはDNA末端を分解して再結合しやすく形を整え、XLFやXRCC4などは再結合のための足場を形成し、最終的に

DNAリガーゼと呼ばれるDNA鎖をつなげる酵素がDNA鎖を再結合する。この非相同末端結合は、修復の過程で、DNAの切断末端の塩基が数個から数十個欠けてしまうことが多く、突然変異を伴いやすい修復経路である。

もう1つの経路は、相同組換え修復と呼ばれる経路である。この経路は、DNA複製後にできる同じ遺伝情報を持つ染色体(姉妹染色分体)を鋳型にして修復する方法であり、細胞周期の特定の時期(DNA複製が完了してから細胞

胞分裂するまでの時期)にのみ働き、遺伝情報が正確に修復される経路である。切断されたDNA末端には、まずMre11, Rad50, Nbs1と呼ばれる3種類のタンパク質の複合体が結合し、その末端から片方のDNA鎖を分解して一本鎖DNAを露出させる。次に、一本鎖DNA結合タンパク質であるRad51タンパク質が結合し、損傷していない姉妹染色分体の相同配列部分のDNAを開裂して一本鎖DNAを滑り込ませ、塩基対を形成させる。このようにして互いのDNA鎖を交換した後に、損傷を受けていない姉妹染色分体のDNA鎖を鋳型にして、損傷部分はDNA合成酵素により合成される。最後に、交差したDNAはMus81/Eme1, Slx1/Slx4などのDNA切断酵素により切断されて再結合し、元の遺伝情報を有する2本のDNA鎖が完成する。

ヒトなどの高等真核細胞では、2つの経路のうち非相同末端結合の方が優位であり、二本鎖切断は非相同末端結合により修復されるケースが多い⁸⁾。突然変異を伴う非相同末端結合による修復は生物にとって不都合に思われるかもしれないが、実際のところヒトのような高等真核細胞の場合、DNA上の98%の領域は遺伝情報を含まない。また、細胞内では全ての遺伝子が機能しているわけではないので、突然変異が入っても細胞の生存に大きく影響を与えない場合が多い。

図3は、ヒト細胞に3 GyのX線を照射したときの蛍光顕微鏡写真で、修復タンパク質を蛍光色素(白い輝点として観察される)で検出している。照射後、数分~数十分以内に、DNA二本鎖切断部位に修復タンパク質が生成して集合し、輝点が多数観察されるようになる。その数時間後には大部分の二本鎖切断は再結合して輝点は消失する。

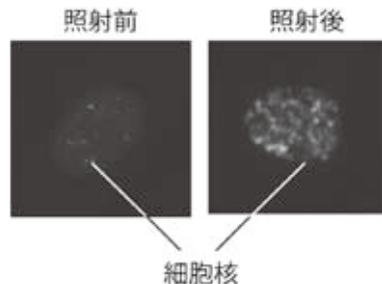


図3 DNA修復過程の可視化

チェックポイント機構

真核細胞は、DNA損傷の修復機構に加えて、生体をDNA損傷から積極的に防御するためのチェックポイント機構を備えている⁹⁾。チェックポイント機構は、核内のDNAに異常がないか監視し、損傷が発生すると細胞の増殖を止めたり、細胞死(アポトーシス)を誘導する機構である。チェックポイント機構は、数多くのタンパク質から構成され、ATMと呼ばれるタンパク質リン酸化酵素を頂点とする情報伝達系である(図4)。ATMはDNA鎖の二本鎖切断に伴う高次構造の変化を感知し、その下流にある複数のタンパク質にリン酸基を付与する。リン酸化を受けたタンパク質は高次構造が変化して、様々な生理活性を発揮できるようになる。ATMの標的の1つはDNA修復酵素であり、複数のDNA修復酵素の活性を亢進して修復反応を促進する。さらに、細胞核の中にコンパクトに折りたたまれたDNA鎖を広げて、DNA修復酵素が結合しやすい状態にする。また、ATMは細胞周期の進行を止めるタンパク質を活性化し、修復反応が完了するまで細胞増殖を停止させる。これは、DNAに損傷を残したまま細胞が分裂増殖し、誤った遺伝情報が次世代に引き継がれて突然変異を起こしたり、染色体異常を起こすことを防ぐためである。

DNA損傷の量が多く細胞の修復能力を超え

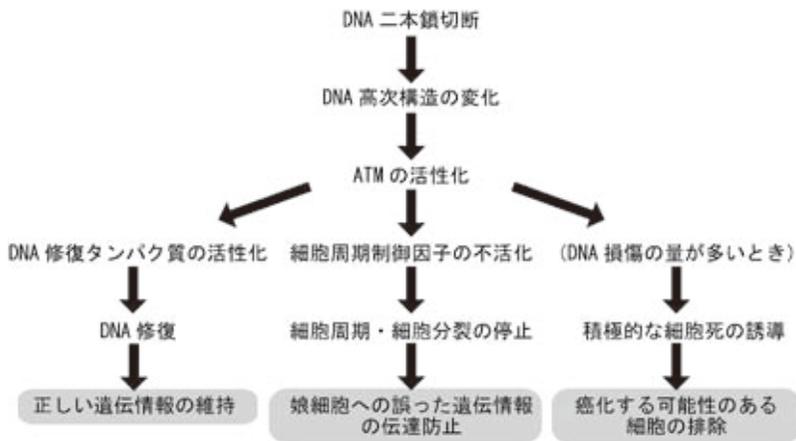


図4 チェックポイント経路の概略 (文献8)より改変して転載)

ている場合は、ATMは細胞に備わっている自爆装置のスイッチを入れて、積極的に細胞死を誘導する¹⁰⁾。細胞死が誘導されると、細胞内でDNAやタンパク質の分解が起こり、細胞の表面にも特有の変化が現れ、マクロファージなどの異食作用を持つ免疫系の細胞を引き寄せる。最終的に、死んだ細胞は免疫系の細胞に取り込まれて消失し、将来癌化の原因となる有害な突然変異を持つ可能性のある細胞が、個体から排除される。

DNA修復タンパク質やチェックポイントの構成タンパク質を先天的に欠損する遺伝病が複数報告されているが、患者はいずれも高い発癌率を示すほか、免疫不全、神経症状、早老症など様々な病態を示す。このことは、DNA修復機構やチェックポイント経路が生体内で重要な機能を果たしていることを示している。

おわりに

DNA損傷とその修復機構は、細胞の癌化や老化とも密接に関連しているため、分子生物学において現在最も注目を集める学問分野の1つ

となっており、研究の進展には目を見張るものがある。その一方で、福島第一原子力発電所事故以来、放射線の危険性に関する国民の関心が高まっているが、放射線の生物影響に関して本質的な理解が広まっているとはいえず、目に見えない放射線に対して計り知れない不安を抱いている人も少なくない。放

射線取扱主任者をはじめとする専門家は、国民に正しい情報を分かりやすく提供しその理解を助けることが求められており、本稿がその一助となれば幸いである。

参考文献

- 1) 山口彦之, 放射線生物学, 裳華房 (1995)
- 2) 江島洋介, 木村博編, 放射線生物学, オーム社 (2011)
- 3) Vilenchik, M.M. and Knudson, A.G., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 12871-12876 (2003)
- 4) 近藤宗平, 人は放射線になぜ弱いのか, 講談社 (1998)
- 5) Ciccio, A. and Elledge, S.J., *Mol. Cell*, **40**, 179-204 (2010)
- 6) Maynard, S., et al., *Carcinogenesis*, **30**, 2-10 (2009)
- 7) 泉雅子, 日本物理学会誌, **68**, 141-148 (2013)
- 8) 泉雅子, ぶんせき, **441**, 527-531 (2011)
- 9) Lavin, M.F. and Kozlov, S., *Cell Cycle*, **6**, 931-942 (2007)
- 10) Lakin, N.D. and Jackson, S.P., *Oncogene*, **18**, 7644-7655 (1999)

(独立行政法人理化学研究所
仁科加速器研究センター)