



平成29年7月19日

国立大学法人 広島大学

国立大学法人 茨城大学

放射線に対する強さ・弱さの個人差を決める遺伝子変化を同定
～放射線防護基準のテラーメイド化への第一歩～

【本研究成果のポイント】

- ヒト培養細胞株にゲノム編集法を用いて、特定の遺伝子変化が放射線感受性に与える影響を高感度かつ定量的に評価する解析手法を確立しました。
- DNA 損傷修復を司る *ATM* 遺伝子のヘテロ変異が、放射線感受性個人差を規定する遺伝子変化の一つであることを実証しました。

【概要】

広島大学原爆放射線医科学研究所の松浦伸也教授、宮本達雄講師、エカテリーナ・ロイバ大学院生らの研究グループは、ゲノム編集法（注1）を用いて毛細血管拡張性運動失調症（注2）の原因遺伝子である *ATM* 遺伝子（注3）のヘテロ変異が放射線感受性（注4）の個人差を規定する要因の一つであることを実証しました。従来、喫煙などの生活習慣やヒト集団の多様な遺伝的背景によっても放射線感受性は影響されるため、放射線感受性の個人差を決定する遺伝子変化の影響を特異的に検出することは難しいとされてきました。今回、広島大学大学院理学研究科、医歯薬保健学研究科、茨城大学理学部との共同研究により、遺伝的に均一なヒト培養細胞にゲノム編集法を用いて特定の遺伝子変異を導入して、放射線によって生じる染色体構造異常を定量的に計測することで、放射線感受性の個人差を決定する遺伝子変化を同定する手法を確立して、*ATM* ヘテロ変異が放射線高感受性の遺伝的要因の一つであることを証明しました。

現在の放射線防護基準は公衆に対して一律に設定されていますが、将来的には個々人の放射線感受性に応じてテラーメイド化される可能性があります。今回の研究は、このような放射線防護基準のテラーメイド化への第一歩となると期待されます。

本研究成果は、英国の科学雑誌「Scientific Reports」オンライン版に2017年7月20日18時（英国時間：2017年7月20日10時）に掲載されました。

【発表論文】

論文名：“Evaluation of *ATM* heterozygous mutations underlying individual differences in radiosensitivity using genome editing technology”

著者：Ekaterina Royba, Tatsuo Miyamoto, Silvia Natsuko Akutsu, Kosuke Hosoba, Hiroshi Tauchi, Yoshiki Kudo, Satoshi Tashiro, Takashi Yamamoto, Shinya Matsuura

DOI : 10.1038/s41598-017-06393-8

【共同研究機関】（敬称略）

広島大学 原爆放射線医科学研究所 放射線ゲノム疾患研究分野

Ekaterina Royba、Silvia Natsuko Akutsu、細羽康介、宮本達雄、松浦伸也

茨城大学 理学部 生物科学

田内 広

広島大学大学院 医歯薬保健学研究科 産科婦人科学

工藤美樹

広島大学 原爆放射線医科学研究所 細胞修復制御研究分野

田代 聡

広島大学 大学院理学研究科 数理分子生命理学専攻

山本 卓

【研究の背景】

お酒に強い人、弱い人がいるように、放射線に対して強い人、弱い人がいることがこれまでの研究から示されてきました。とくに、放射線によって生じる DNA 二重鎖切断損傷を修復する能力には個人差があり、これが放射線による発がんリスクの個人差に反映されると考えられ、DNA 修復遺伝子上の塩基配列の変化がその決定要因として推定されてきました。しかし、放射線感受性は、喫煙や飲酒などの生活習慣やヒト集団における遺伝的な多様性によって影響を受けやすいため、放射線感受性の個人差を規定する遺伝子変化については不明な点が多いのが現状です。本研究では、放射線感受性個人差を規定する遺伝要因を同定する目的で、放射線高感受性遺伝病・毛細血管拡張性運動失調症の原因遺伝子であり DNA 修復遺伝子でもある *ATM* 遺伝子のヘテロ変異が放射線感受性に対する影響を最新の高感度染色体解析システムとゲノム編集法を用いて評価しました。

【研究手法および研究成果】

毛細血管拡張性運動失調症の 1 家系から皮膚線維芽細胞を収集して、放射線照射後の微小核(図 1) や不安定型染色体(図 2) の形成頻度を測定しました(図 3)。その結果、興味深いことに、ヘテロ保因者細胞は健常者細胞に比べて放射線照射後の染色体構造異常の形成頻度が有意に亢進していました。しかし、同一家系内であっても各細胞の遺伝的背景は異なるため、ヘテロ保因者間でも放射線感受性に個人差があり、*ATM* ヘテロ遺伝子変異の放射線感受性に対する正味の影響を評価することは困難でした。

そこで、均一な遺伝的背景をもつヒト培養細胞株にゲノム編集法を用いて *ATM* ヘテロ遺伝子変異を導入したモデル細胞を樹立しました。これらのモデル細胞の放射線照射後の染色体異常を評価した結果、皮膚線維芽細胞で見られたように、*ATM* ヘテロ遺伝子変異導入細胞は *ATM* 遺伝子正常細胞に比べて放射線感受性が高いことが分かりました(図 4)。さらに、*ATM* ヘテロ遺伝子変異導入細胞クローン間の放射線感受性のばらつきは小さく、低い線量域でも野生型細胞との感受性の違いが明確に検出できることから(図 4)、ヒト培養細胞株におけるゲノム編集法は、放射線感受性を高感度かつ定量的に評価できる手法であることが示されました。これらの解析結果から、*ATM* ヘテロ遺伝子変異が放射線感受性の個人差を規定する遺伝子変化の一つであることが明らかになりました。

【今後の展望】

本研究で同定された *ATM* ヘテロ遺伝子変異のほかにも、放射線感受性個人差を規定する遺伝子変化の存在が予想されています。放射線高感受性遺伝病の患者頻度は数十万人から数百万人に一人と稀ですが、放射線高感受性遺伝病のヘテロ保因者はヒト集団内に数%~10%程度に存在することが推定されており、これらの遺伝病のヘテロ遺伝子変異は放射線感受性個人差を規定する有力な遺伝子変化であると考えられます。これらの遺伝子変化を放射線感受性の遺伝マーカーとして用いることにより、将来的には、放射線事故による高線量被ばくのみならず、医療放射線被

ばくなどの高線量率低線量被ばくにおいても、個々人の放射線感受性に応じた放射線防護基準のテーラーメイド化が可能になると期待されます。

【参考資料】

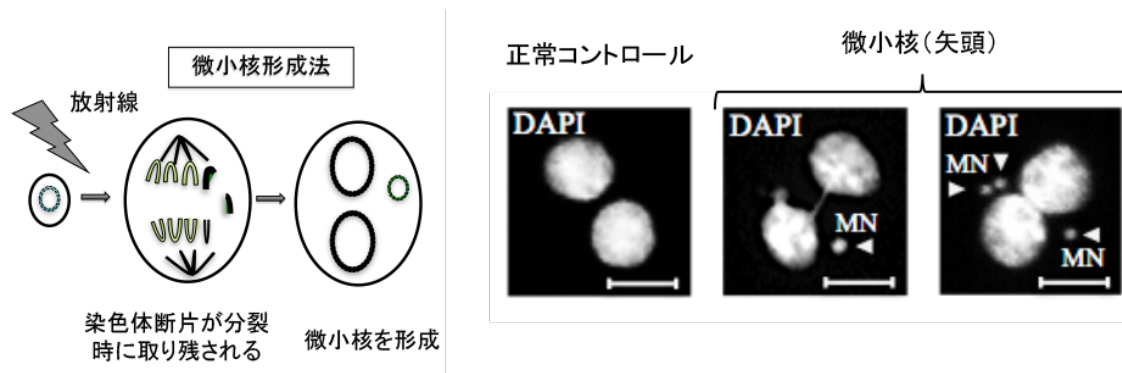


図1 放射線照射後に DNA 損傷修復に失敗した場合、染色体断片が産生される。この染色体断片は、微小核として細胞内に残存する。したがって、微小核を計測することで細胞の DNA 修復能を測定することができる。放射線感受性の高い (DNA 修復能が低い) 細胞は微小核形成頻度が高くなる。

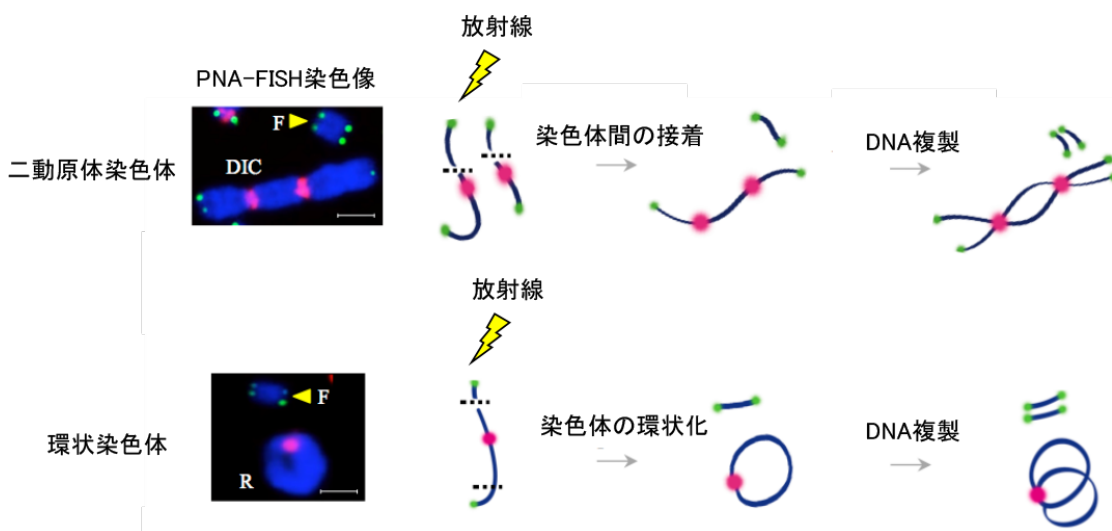


図2 放射線照射後には、二動原体染色体や環状染色体などの不安定型染色体が産生します。本研究では、PNA-FISH 法と呼ばれる方法で染色体を蛍光染色して、不安定型染色体の発生頻度を測定しました。

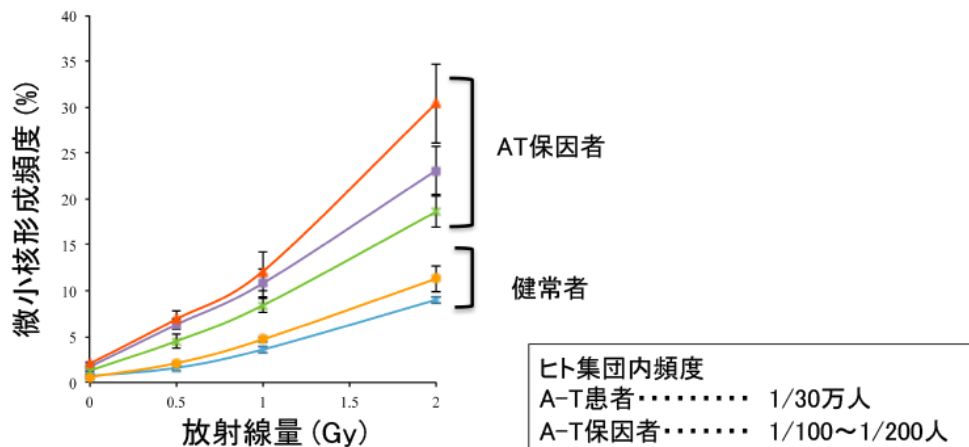


図3 毛細血管拡張性運動失調症家系から採取した皮膚線維芽細胞の微小核形成頻度。ヘテロ保因者細胞は、健康者細胞よりも放射線感受性が高いが、保因者間でも個人差が検出された。

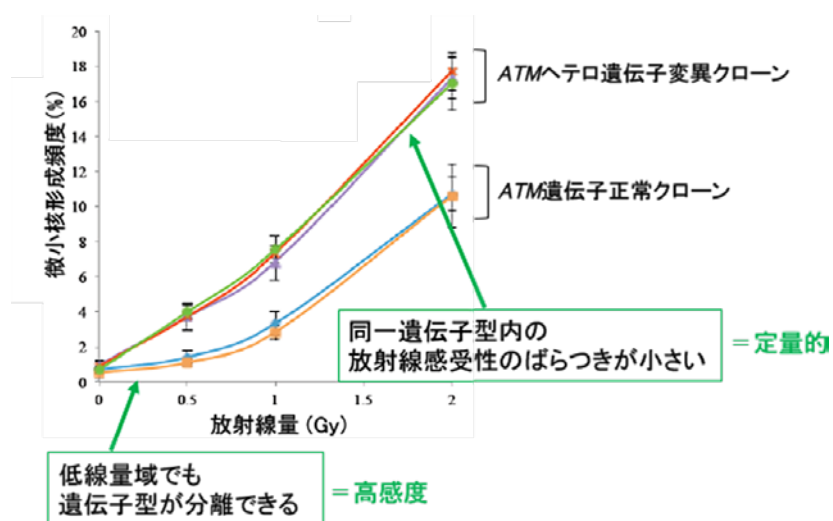


図4 ゲノム編集法によって作製された ATMヘテロ遺伝子変異導入細胞は、野生型細胞よりも放射線照射後の微小核形成頻度が有意に高かった。ヘテロ遺伝子変異導入細胞クローン間の放射線感受性のばらつきは小さく、低線量域の野生型細胞との放射線感受性の違いも明確に検出できた。

【用語説明】

注1 ゲノム編集法：

ゲノム上の任意の塩基配列を切断する CRISPR/Cas9 システムなどの人工ヌクレアーゼを用いて、遺伝情報を効率的に改変する技術

注2 毛細血管拡張性運動失調症 (Ataxia-telangiectasia: A-T)：

放射線高感受性遺伝病の一つで、常染色体劣性遺伝を示す数十万人に一人の発生頻度の稀な疾患。臨床的には、高発がん性や免疫不全、小脳失調などに特徴づけられる。保因者は、臨床的には健康であり、ヒト集団内に 100~200人に1人存在している。

注3 ATM遺伝子：Ataxia-Telangiectasia Mutated 遺伝子

毛細血管拡張性運動失調症の原因遺伝子。ATM遺伝子は、放射線によって生じるDNA二重鎖切断を認識して修復を促すタンパク質の設計図。

注4 放射線感受性：

従来、放射線感受性は、放射線照射後にどの程度細胞が生存したかを指標にして測定されており放射線致死感受性として定義されてきた。本研究では、放射線照射後の染色体構造異常を計測することで、DNA 損傷修復能を放射線感受性として定義した。DNA 修復能が低い細胞ほど、放射線によって生じる染色体異常が残りやすく放射線感受性が高いと言える。

注5 微小核：

放射線によってできた DNA 二重鎖切断の修復に失敗したまま、細胞が分裂期に入ると染色体断片が取り残される。やがて細胞が有糸分裂を終えた場合、染色体断片は微小核となって娘細胞に引き継がれる。

注6 不安定型染色体：

放射線照射によってできる染色体断片が再構成されて、通常では検出されない染色体構造異常が生じる。その典型例として、2つの染色体が結びついた二動原体染色体や、染色体の末端部失われて環状化した環状染色体がある。これらの異常は、細胞分裂の過程で消失する傾向があるため不安定型染色体と呼ばれている。