

DNA 損傷・修復の観点から見た低線量率放射線影響

松本 義久

(東京工業大学科学技術創成研究院先導原子力研究所)

1. 低線量率放射線影響についての現状

放射線の生物影響は線量に依存するが、線量が同じであっても、時間あたりの線量、つまり線量率が小さくなれば影響は小さくなる傾向がある。これは「線量率効果」と呼ばれる。その理由は、照射中に「亜致死損傷(Sub-lethal damage、以下 SLD)」の回復が起こるためと考えられている。SLD とは単独では致死とされないが、累積すると致死となるような損傷である。元々、Elkind と Sutton による培養細胞に対する分割照射実験から示された概念である(1)。同じ線量でも 1 回で照射した場合より、2 回に分けて照射した場合の方が細胞生存率が高くなる。この結果を、Elkind と Sutton は 1 回目の照射でできた傷の中に SLD があり、分割照射すると 2 回目の照射までの間に回復が起こるためであると説明した。低線量率照射は、1 回あたりの線量を小さくし、分割の間隔を短くした

極限であると考えられる。

このような知見が積み重ねられたのは、主に、放射線生物学の黎明期で、DNA 修復機構の実体が知られていなかった。1990 年代になり DNA 修復遺伝子群が 続々同定され、さらにそれらの遺伝子の欠損細胞も多数発見、あるいは作製され た。これにより、SLD 回復や線量率効果の分子メカニズムの詳細な解析が可能 となった。しかしながら、DNA 修復遺伝子の発見以来、その機能や相互関係の 解明に研究の中心がシフトした。そのため、SLD 回復や線量率効果のメカニズ ムについての研究は十分に行われたとは言い難く、課題も多く残されているの が現状と言えよう。

2. DNA 損傷と修復

DNA 損傷、修復と一口に言っても様々な種類の損傷に対する修復機構がある。 正常ヒト 2 倍体細胞では、X 線あるいは γ 線 1 Gy あたり、塩基損傷が約 500 個、 DNA-タンパク質架橋が約 150 個、一本鎖切断が約 1000 個、二重鎖切断が約 40 個生ずるとされている(2)。この中で、DNA 二重鎖切断(Double-strand break、 以下、DSB)は最も重篤で、種々の生物作用の主因であると考えられている。DSB

の修復機構には、非相同末端結合(Non-homologous end joining、以下、NHEJ)と相同組換え(Homologous recombination、以下、HR)の2つの主要な機構がある。さらに、古典的/標準的な NHEJ(Classical/Canonical NHEJ、以下、C-NHEJ)に加え、非標準的/代替的な NHEJ(Atypical/Alternative NHEJ、以下、A-NHEJ、別名 Polymerase theta-mediated end joining; TMEJ)の存在とその機構が近年明らかになってきた(図1)。ただし、反応機構としては、A-NHEJはC-NHEJよりもHRと共通部分を持っている。

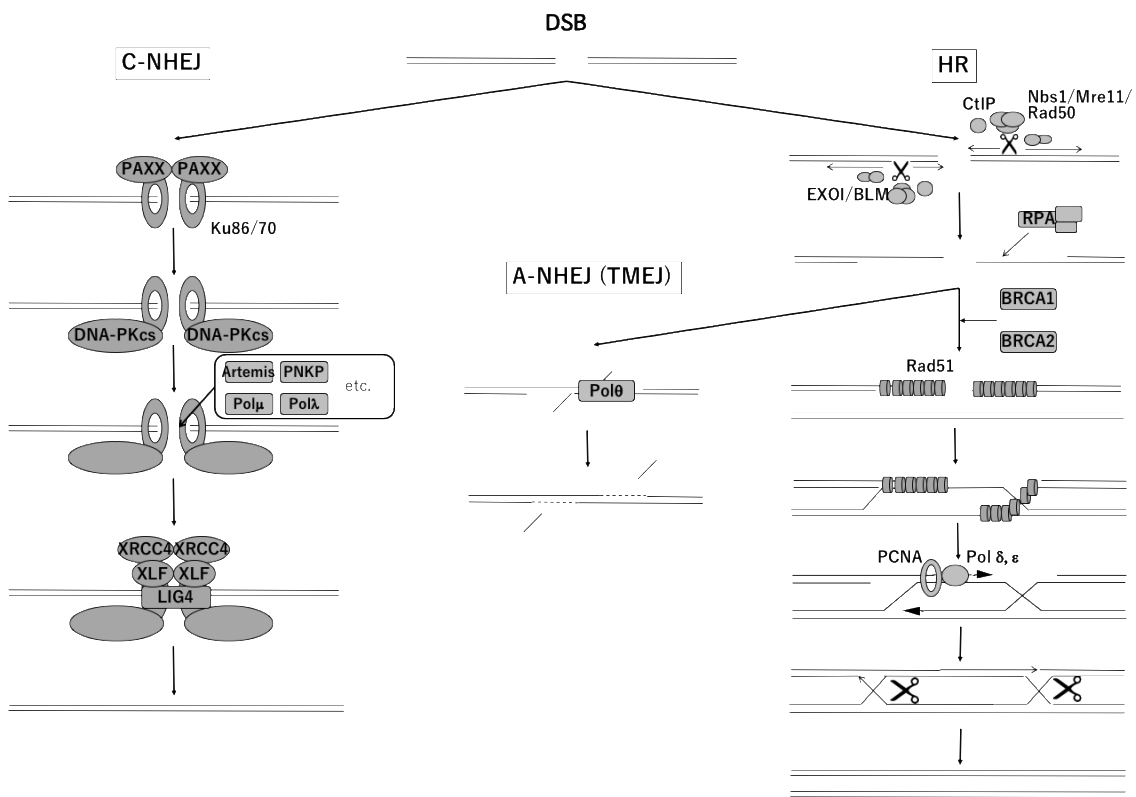


図1 DNA二本鎖切断(DSB)の修復機構

C-NHEJ は、空間的に近い DNA 末端同士を繋げる反応である。一方、HR は、DSB 周辺と相同な配列を探索し、これを鋳型として配列を復元する。相同な配列を探索するために一本鎖 DNA を作るが、これが誤って対合することにより、A-NHEJ が起こる。HR は C-NHEJ や A-NHEJ より正確で、また、C-NHEJ は A-NHEJ より正確であると考えられている。しかし、HR による修復は S 期中盤以降から G2 期に限定される。HR を行うためには相同な配列、すなわち相同染色体もしくは姉妹染色体が必要であるが、ヒトなど高等動物の細胞では相同染色体はほとんど鋳型として機能せず、複製後に近傍に存在する姉妹染色体のみが HR の鋳型として機能するためである。ヒトなどの高等動物細胞では、G1 期に HR の開始を抑制するような仕組みがいくつか知られている。細胞の放射線感受性は細胞周期の時期により異なる。姉妹染色体が存在し、HR が機能する S 期後半から G2 期にかけては放射線抵抗性となる。

3. 低線量率放射線影響の今後の課題

最初に述べた SLD 回復は分割照射の間に、DNA 損傷、特に、DSB が修復さ

れたことの現れであると考えられる。DSB が重なると誤修復の可能性(リスク)が高くなる。Utsumi らは、2001 年に HR に関わる Rad54 遺伝子欠損細胞が SLD 回復を示さないことを示した(3)。このことはつまり、SLD 回復の実体が HR であることを示唆している。

しかしながら、分割照射の効果にはさらに複雑な要素も絡んでくる。Elkind と Sutton は上記の論文の中で、全体的には 2 回の照射の間隔を長くすると細胞生存率が上がるが、ある間隔では細胞生存率が下がることが指摘されている。これは、細胞周期による感受性変化を反映していると考えられる。すなわち、1 度目の照射の際に、放射線抵抗性の S 期後半から G2 期にかけての細胞が多く生き残っている。この細胞集団が M 期にさしかかったときに 2 度目の照射を行うと、M 期細胞は放射線感受性が高いため多くの細胞が死に至ることになる。

また、2 回の照射の間隔をさらに長くすると、放射線照射の間に、DNA 損傷修復のみならず、細胞の増殖が起こることを考慮に入れる必要が生じてくる。たとえば、コロニー形成法と呼ばれる実験の場合、単一細胞を一定数播種し、増殖を繰り返して、肉眼で見えるほどの細胞塊(コロニー)になった割合を求める。

この単一細胞という点が重要であるが、播種してから時間が経ち、細胞が増殖し

て2個になると、このうちどちらかが増殖を続ければよいので、見かけの生存率（コロニーの形成率）は高くなる。

低線量率照射の場合も、照射の間に DNA 損傷修復が行われるとともに、連続的に細胞の感受性が変化し、さらに、照射時間によっては細胞の増殖も起こることを考える必要がある。さらに、組織中の細胞の場合は、細胞分化、交替などの考慮が必要である。これらを定量的に明らかにするために、最新の分子生物学の知見や技術を取り入れた実験が求められる。たとえば、CRISPR/Cas9 を用いたゲノム編集によって DNA 修復遺伝子欠損細胞を体系的に作製し、これらを解析することで、複数の DNA 修復経路の役割や相互関係を明らかにすることができるであろう。また、細胞周期や DNA 損傷を生きたままの状態でも可視化する技術も確立されている。さらに、組織幹細胞とそのマーカーの同定、試験管内三次元組織培養系の確立などにより、組織中での幹細胞の増殖、分化、移動などを追跡することが可能となっている。このような実験的アプローチにシミュレーション、数理モデル構築など理論的なアプローチを組み合わせることによって、低線量率放射線影響の定量的、体系的な理解につながることを期待したい。

参考文献

1. Elkind MM, Sutton H. X-Ray Damage and Recovery in Mammalian Cells in Culture. *Nature* **184**, 1293–5 (1959).
2. United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation: UNSCEAR 2000 Report to the General Assembly, with Scientific Annexes Volume II: Effects. p.4.
3. Utsumi H, Tano K, Takata M, Takeda S, Elkind MM. Requirement for repair of DNA double-strand breaks by homologous recombination in split-dose recovery. *Radiat Res.* **155**, 680-6 (2001).