

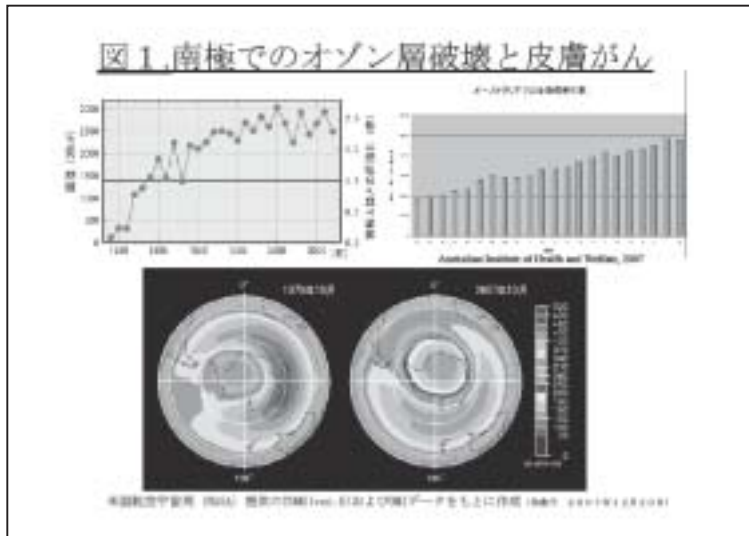
講演 4

放射線や紫外線にみる DNA の傷と生物の危機管理

放射線生物研究センター長 小松 賢志

ご紹介ありがとうございます。放射線生物研究センターの小松といいます。

これが我々の放射線生物研究センターの建物です。ちょうど五山の送り火の火の字が見える良い位置に立地しています。きょうの私のお話は、この建物の中で研究した成果を中心にお話したいと思います。タイトルは、先ほど紹介された通りです。



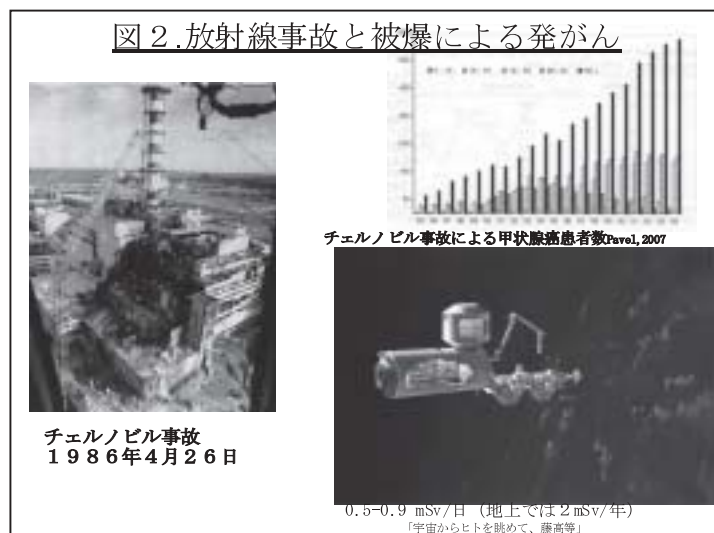
これは気象庁のウェブ掲載された南極上空のオゾン層の写真です。1979年の南極上空のオゾン層は正常でしたが、それが昨年の10月には、この灰色のところオゾン層の破壊を示していますが、大きく拡大しています。(図1)

数値で表すと、1979年から1985年にかけて、南極大陸の面積とほぼ同じぐらいまでオゾン層の破壊領域が広がっております。

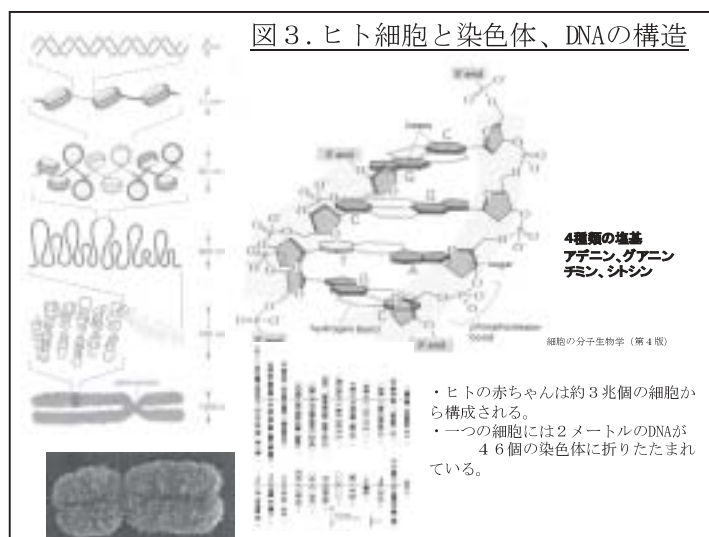
す。そして、未だに拡大しているということがわかります。

一方、オーストラリアの厚生労働省のデータから、この点が1982年の悪性黒色肉腫メラノーマの発生頻度を表しています。メラノーマというのは、皮膚がんの中でも非常に悪性度の高いがんです。このメラノーマが、このオゾン層の破壊と一致するように年代とともに増加しております。オーストラリアの皮膚がんというのは国民病みたいなものでして、2人に1人が皮膚がんになるお国柄ですので、こういうオゾン層の破壊とそれに伴う皮膚癌の発生関係が非常に明瞭に見えるわけです。

一方、放射線に関しては、皆さんご存じのように1986年4月26日にチェルノビルで事故が起こりました。このときにヨード131、125がベラルーシー帯に飛び散ったわけです。ヨードというのは甲状腺に取り込まれるんですね。その地域での甲状腺がんの発生頻度を見たものですが、これが事故直後の発生頻度ですが、その後、急速にこの頻度が増加して、直後の数十倍まで増加していることがわかるかと思います。(図2)



放射線事故以外にも、人類が宇宙に進出するようになりますと宇宙放射線の被曝の機会が増えております。宇宙船に線量計を持ち込んで測定しますと、1日当たり0.5から0.9ミリシーベルトの被曝をします。これは、地上で我々が被曝する年間の被曝線量2ミリシーベルトのおよそ100倍ぐらいの線量になるわけです。我が国の放射線障害規則では被曝の許容線量が決められていますが、3週間ぐらい宇宙に滞在すると、もうその許容線量限度に達してしまうぐらいの被曝線量に相当します。



このように、紫外線あるいは放射線のいずれを取り上げても、我々は新たな環境の脅威にさらされています。これらの脅威から命を守る仕組み、特にDNAレベルでどうなっているのかというのが今日の私のお話です。

紫外線、放射線ともDNAに障害を及ぼしますので、初めにDNAについておさらいをします。ヒトの赤ちゃんは約3兆個の細胞から構成されますが、これらの細胞は、もとをたど

れば1個の細胞の分裂に由来します。1個の細胞にはDNAが直線に延ばすと2メートルの長さになり、これが46個の染色体に折りたたまれています。(図3)

ヒトの染色体は22対の常染色体と1対の性染色体から構成されております。ここにその染色体を示しますが、お父さん由来とお母さん由来の染色体があるので、実際にはこれの2倍の46本になります。

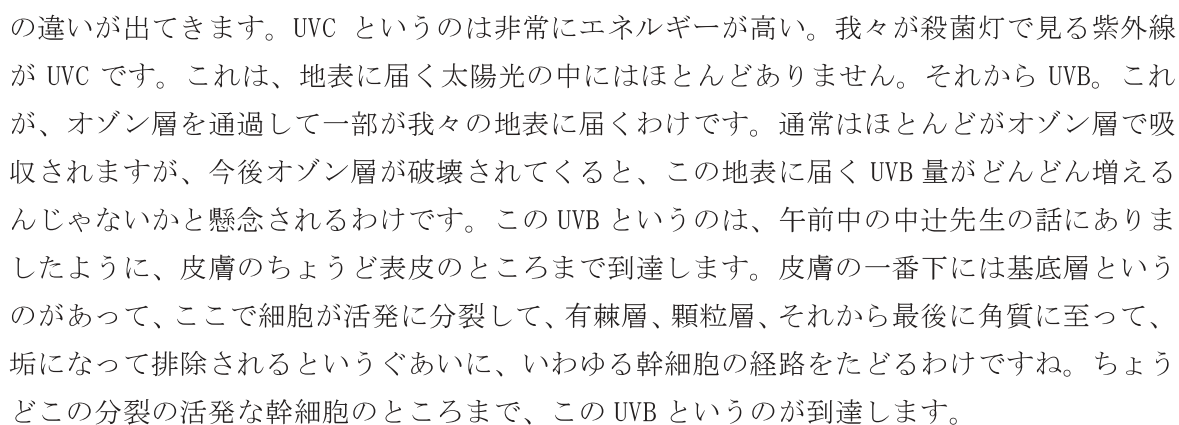
この染色体の一部を拡大して写真でみると、非常に密に折りたたまれている事が分かります。この図は模式的に示したものです。

最終的にDNAはヒストンと呼ばれる蛋白のビーズに絡まっておりまして、さらに拡大するとこのように二重らせん構造が見れます。この二重らせんは4種類の塩基——アデニン、グアニン、チミン、シトシンという塩基で、水素結合で二本のDNA鎖は結びついています。以上がDNA構造の概略です。

このようなDNAに、紫外線と放射線はそれぞれ特徴ある損傷を与えます。スライドに示したように、紫外線の場合には分子を励起して化学反応を促進します。特にこのチミン分子のような二重結合のあるところの反応を促進しまして、隣のチミンとこのように結合させて、シンクロブタン型のチミン二量体を生成します。こうなると、二本鎖の反対側の塩基と水素結合ペアをつくることができません。

続いて、電離放射線。これは紫外線よりももう少しエネルギーが高いです。ここに示したように、我々が目に見えるのは赤い色、それから青い色があります。青い色のもっとエネルギーの高いところが目に見えない紫外線領域と呼ばれます。英語ではウルトラバイオレットということで、UVというぐあいに示してあります。これよりさらにエネルギーの高いのがX線、ガンマ線、それから、宇宙線というぐあいになります。放射線のエネルギーが高いと何

このような DNA 損傷の種類が違ふことに加えて、もう 1 つ大きい違いは、UV は A、B、C というぐあいにエネルギーに応じて便宜上分けておりますが、透過力

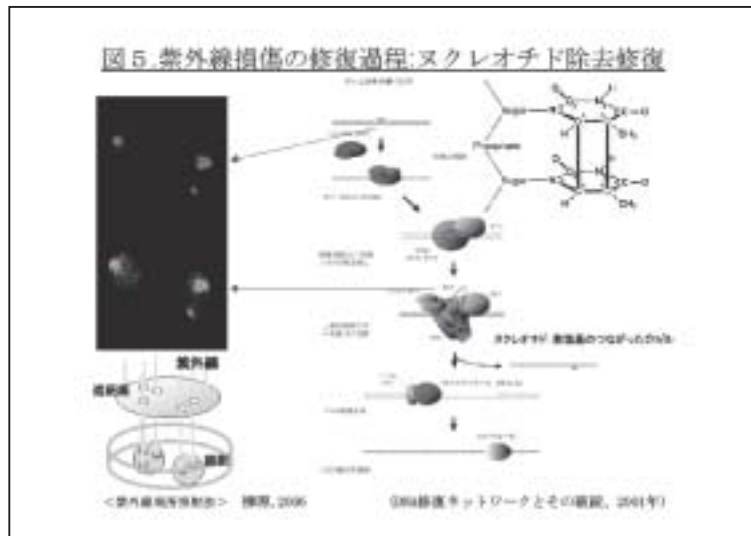


一方、X線については、X線写真に使われるぐらいですから、皮膚の透過はおろか骨までも通過してしまう特徴があります。また、生物効果もここで見るように非常に重篤なDNA障害を与えます。

この患者さんの細胞をとって、先ほどの損傷がどれくらい減るかというのを見てみますと、これは正常な人の傷の減りぐあいです。6時間ぐらいで40%ぐらいまで減少しますが、患者さんの細胞では全く除去はしません。1日たってもそのまま残っています。

47

ミクロンか5 ミクロンぐらいのサイズの穴があいたフィルターをこの上にかぶせます。そして



て上から紫外線を照射します。そうすると、細胞に局所的に照射できるわけですね。それを見たのが、この免疫染色の図です。細胞の一部に傷ができています。この傷は、先ほど出てきたようなシンクロブタン型の紫外線特有の損傷を認識しているわけですね。これを模式的に示しますと、このようになります。(図5)

さらに、この傷を認識して修復たんぱくがいろいろ集まって

くるのがわかります。先ほどの患者さんの病気の原因となったたんぱく、XPA もここに集まってきますね。ここではDNAを手繰り寄せて、最後は、ここでニックという切り口を入れます。そして、この傷を除去します。除去した後、ここからDNA合成を開始して、最後はリガーゼによってDNAがくっつけられます。

こういうぐあいにある程度の長さの塩基がつながったものをヌクレオチドといいますので、これをヌクレオチド除去修復というぐあいに呼びます。これは正常な人ではこのように進行しますが、患者さんではこのたんぱくがないということで、この以降の反応が進まない。したがって、DNAの傷が除去ができないというようなことになるわけです。

今のお話は紫外線の場合です。紫外線は、生命の誕生、おそらくは地球の誕生した30億年以来、太陽光からさんさんと降り注いできたと考えられます。生命はそれに対する脅威と、それから、それをうまく生物進化に使ってきたというような歴史があるわけです。ですから、先ほどのヌクレオチド除去修復のように、紫外線に対する修復機能は持っているだろうということはある程度予想がつきます。それじゃ、放射線はどうだろうかということですね。放射線は、1895年(明治28年)に発見されたものであります。これ以前に人類が放射線を浴びるという機会はなかったわけでありまして。ところが、遺伝子の進化というのは100年とかそういう短い単位ではないわけですね。

ここで1つの例をとりますと、小腸ラクターゼの発現というのがあります。我々は赤ん坊のときにはお母さんのお乳を飲んでそれを消化することができます。ところが、大人になるとそれを消化できなくなります。いわゆる離乳期になる訳です。ほとんどの日本人はそうですけど、西洋人の大多数はこれが大人になっても消化できます。それが、西洋人が牛乳を飲むことが出来る原因であり、さらに、これが西洋人の牧畜の始まりと一緒の時期になったんじゃないかとぐあいに推定されています。現在ではこの遺伝子変異もわかっておりまして、突然変異はこの場所で起こったわけですね。このチミンからグアニンの1塩基突然変異が起こって、先ほどの小腸ラクターゼの発現の異常が起こりました。時期は約7,000年前と言われています。

それから、もうちょっとさかのぼるんですけど、アミラーゼ遺伝子の増加というのがあり

ます。チンパンジーでは2コピー、お父さんとお母さんからいただいた2つのコピーしかないんですけど、日本人では14コピーにも増加しています。アミラーゼ遺伝子というのはでんぷんを分解するのに必須です。このコピー数の増加により球根などの摂取が有利になったと推定されています。これも20万年ぐらい前に起こったと言われていています。このように遺伝子の変化というのは数千年あるいは数十万年の単位で起こってくるわけなんですけど、わずか100年前に起こったX線と言う放射線の発見では、時間的にそれに対応するすべがないだろうということが予想されるわけです。

ちなみに、ちょっと話はそれるんですけど、レントゲンは1895年の12月、年の暮れも押し迫った時期にこのレントゲン線発見の論文報告をしましたけど、これは医学利用に使えるんじゃないかということで、その翌年の1月にはもう医学利用の研究会が開催されています。先ほどの山中先生の話を知ると、11月にiPS細胞を報告して、3カ月後にはその研究体制ができ上がったというようなことを言っていますが、このレントゲンのX線を発見したというのをちょうど思い出させるような出来事じゃないかなと、私は話を聞いてそう感じました。

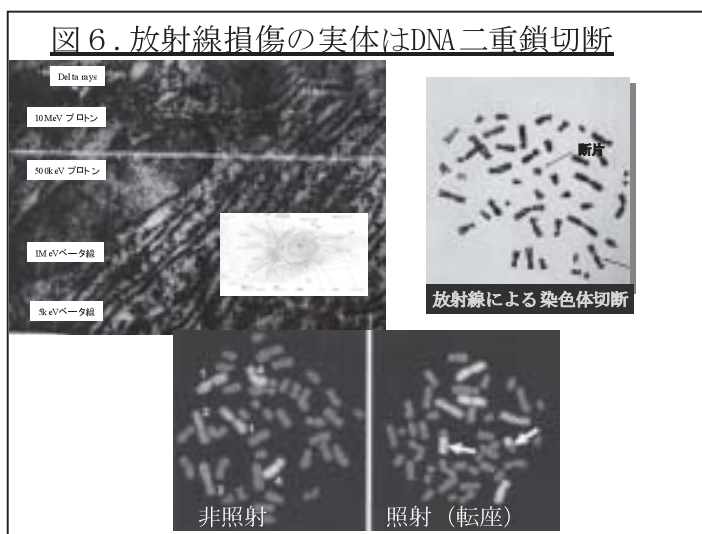
それで、話はもとに戻りまして、放射線の損傷についてお話ししますと、これは細胞の中を放射線が通ったところの図です。

こういう放射線の飛んだ後をトラックと我々は言いますが、そこに電離が起こった事を示しております。この白い点々の一つ一つが電離を示しているわけですね。こういうトラックのところに染色体があると、これはひとたまりもなく染色体に傷がつくわけですね。実際、こういうぐあいに染色体は真ん中に動原体があって、短腕と長腕があるという構造をとっているんですけど、この染色体

には動原体がないということですね。いわゆる染色体切断が起こっている事を示しております。染色体というのは1本の連続的につながったDNAですから、DNA鎖の切断が起こっているということがわかるわけですね。(図6)

じゃ、これが修復できるかどうかということが非常に興味があるわけです。染色体を染め分けるFISH染色というのがありまして、これは1番染色体、2番染色体、4番染色体をそれぞれ個別に黄色く染めております。この細胞に放射線を照射します。照射後に、それをまた染めてみますと、この黄色い染色体と赤い染色体のモザイクになっている染色体があります。これは、黄色の染色体がほかの染色体と結合したということを言っているわけですから、放射線でできた二重鎖切断も、再結合する能力があるんだという事を意味しています。つまり修復できるんだということを暗示しているわけです。

これについてももう少し詳しく調べてみます。この研究に非常に貢献したのはナイミーヘン染色体不安定症候群、簡単にナイミーヘン症候群ともいいますが、この患者さんの病気で



す。ナイミーヘンというのはオランダのライン川にある小さい町、人口 10 万人ぐらいですね。ローマ時代にローマ軍のゲルマンに対する防御基地として発展した古い町です。そこで 1981 年に報告された、最初の患者さんが彼です。残念ながら、十年ぐらい前に感染症で亡くなりました。この患者さんの特徴としては、ちょっと頭が小さい、いわゆる小頭症ですね。で、額が引っ込んでる分だけ鼻が出っ張って見えるということで、鳥様顔貌ともいいます。

患者さんの臨床症状をまとめたのがこの表ですけど、この患者さんの特徴としては小頭症、鳥様顔貌、成長が遅い、それから不妊ですね。子供をつくれな。さらに免疫不全、高発がん性があります。患者さんはたびたびがんが発生し、それを治療する必要があります。それから、この免疫不全が最終的に患者さんの亡く大きな原因です。いずれもこの症状は、この患者さんのたんぱく——これは我々が患者さんからこの細胞をいただいて、1998 年に遺伝子を発見、たんぱくを同定したんですけど、この機能と非常に深くかかわっているということが後でわかりました。

患者さん細胞の特徴としては、放射線に非常に高い感受性を示す。それから、これと同じことなんですけど、染色体異常が高頻度にかかる。そして、チェックポイント異常があげられます。これはちょっと複雑なので、後で説明します。

それで、最初に不妊のことについてお話しします。なぜ不妊が起きるかということなんですけど、このクジャクの写真から始めます。クジャクは、雌を引きつけるためだけにこのようなくらん豪華な羽を進化させてきたわけですね。つまり、雌を引きつけるということは有性生殖を行うということですね。有性生殖を行って遺伝的多様性を獲得するというのが、生命にとって非常に有利に働きます。無性生殖ですと、親からそっくりの子供しかできない。ところが、有性生殖ですと、両親とそっくりの子供ができる事はない。両親のいろいろな性質をあわせ持った子供ができる可能性が高い訳です。そうすると大きな環境変化が起こったときにそれに対応できる子孫が生まれる可能性がある。これが無性生殖ですと、両親ならびにその子孫とも同じ性質をもっているんで、全滅してします。有性生殖が生命の進化にとっては非常に有益であるし、そのために多大なエネルギーを使って、クジャクはそういう有性生殖に適したような羽をつくり上げていくわけですね。

これに先ほどの患者さんのたんぱくがどうかかわるかということを見てみます。教科書的にはお父さん由来の染色体とお母さん由来の染色体があるわけですね。これが分裂、複製しまして 2 倍になるわけなんですけど、その後で、染色体が揃って並ぶ対合を起こします。

この図では赤と黒で染色体が分かれているんですけど、ここでちょっと妙な構造をとっているのが分かります。これを拡大したのがこの写真です。お父さん由来の染色体、お母さん由来の染色体があります。それが途中からこちらに入り込んでいって、お母さん由来の染色体をそのまま DNA 合成で複製しています。ですから、この染色体にはお父さん由来の染色体とお母さん由来の染色体がモザイクに入っているということですね。結果としてこういうぐあいになるわけですね。

ヒトでは、大体この染色体当たり 2 個か 3 個、こういうようなモザイクをつくると言われております。そうすると、これはお父さんとお母さんの性質をあわせ持って、より複雑な性質を、いわゆる遺伝的多様性をつくり出しているわけですね。この原因となっている構造がここですね。これを組換えといいますけど、組換えのたんぱくが実は先ほどの患者さんのた

んぱくです。そのたんぱくが患者さんでは変異を起こしたために、疾患さんの不妊の原因になったということなんですね。

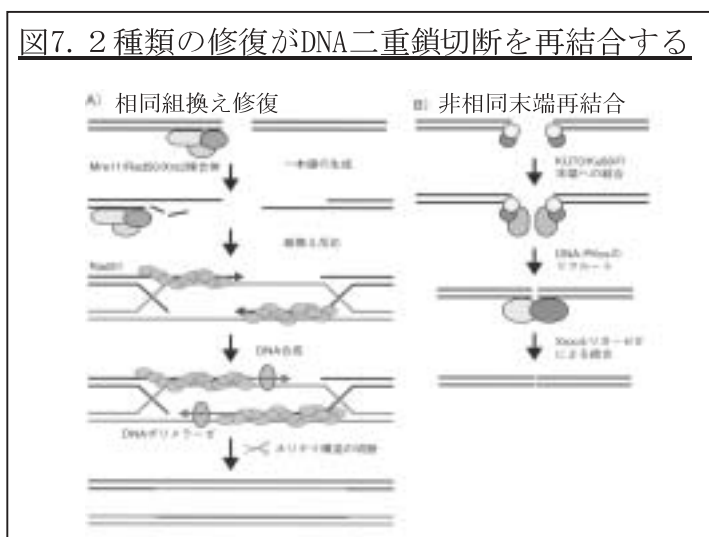
それは本当かという解析結果を、ちょっとややこしい図ですけど、説明します。こういうぐあいに同じ配列を有するのを相同な染色体といいますけど、人工的にレポーター遺伝子をつくっておきまして、これが組換わるかどうかというのを見てみます。組換わると、クラゲからとった蛍光物質 GFP が発光するようなくあいに設計しておきます。そして、この発光のぐあいを FACS と呼ばれる器械を用いて、ここに出てくる発光した細胞数を数えて、組換えがどれぐらい起こったかというのを見るわけですね。

そうしますと、正常な人ではこのレベルまで組換えが起こります。ところが、先ほどの患者さんからとった細胞では、ここまで減少します。半分ぐらいに見えるんですけど、縦軸が対数ですから、実際には 100 分の 1 に組換え頻度が低下しているということがわかります。

これが放射線の感受性とどうかかわるかということなんですけど、先ほどのたんぱくがのように放射線で——これは DNA 二重鎖だと思ってください一切断が起こります。放射線で切断が起こると先ほどのたんぱくが来て、この片方の DNA 鎖をずっと削り取って一本鎖をつくれます。一本鎖をつくと、相同な染色体ですね、自分と塩基配列がそっくりな染色体の中に入り込んでいきます。ここが先ほどの遺伝的な組換え、お父さん由来とお母さん由来の染色体とそっくりな構造をとっているということがわかるかと思いますが、こういうぐあいにお母さん由来の染色体のほうに入り込んで、それを DNA ポリメラーゼを用いて、複製していきます。そして、最後にはがちゃんとリガーゼ酵素でくっつけて、何事もなかったかのように二本鎖が再結合されます。これが相同組換え修復というんですけど、患者さんでは最初

の DNA の削り取ることができなくて、それが原因で放射線に高い感受性を示すということです。

それから、修復のやり方にはもう 1 つありまして、非同相末端再結合と呼ばれます。先ほどののは相同な染色体を利用して再結合したんですけど、こちらでは相同な部位がなくても再結合ができます。やっていることは非常に単純で、切断が起こると、これを、えい、やあと切断部位を直接くっつけるだけです。(図 7)



これも、実はほかの機能と非常にかかわっておりまして、午前中の山中先生の話にヌードマウスとかスキッドマウスというのが少し出てきたかと思います。実験にはよく使われるマウスですけど、免疫機能が全くないマウスがおります。ヒトの免疫細胞は、10 の 8 乗個の抗原に対して対応できるというように言われております。ヒトの遺伝子は 2 万といわれていますので、これがどうやってそういう対応ができるかというのは非常に不思議なわけなんです。その機構は免疫に関する染色体上にこのような DNA 配列がありまして、免疫細胞ではこの DNA を、ここで切断するんですね。切断した後、それを新たに組換えます。そのときに、これの

順列組み合わせですから、無限の数の塩基配列を新たに創出できるということです。これが免疫多様性の一番大きな原因であります。VDJ 組換えというぐあいに呼ばれています。

これが実際に起こったのを示したのがこの電子顕微鏡写真です。免疫細胞ではわざわざこの二重鎖 DNA を自分で切断するんですね。切断した後、ここで再結合します。この再結合に必要なのが、このマウスのたんぱくだったんですね。

我々は、ちょっと古い実験ですけど、この細胞をいただいて、ほんとうに再結合ができるかどうかというのを見てみました。当時の技術ですけど、大きい DNA は残るし、小さい DNA はフィルターを速く透過するという原理を用いた技術を使用しています。この方法で調べますと、正常なマウスの細胞では 1 時間ぐらいで速やかに再結合が起こる。ところが、この免疫機能の欠失したマウスの細胞では 60% ぐらいでとまってしまい、このマウスでは DNA の再結合がうまくできない事がわかります。じゃ、この 60% という中途半端な値は何かというと、先ほどお話しした相同組換えを利用した修復との兼ね合いなんですね。つまり、DNA の再結合修復は非相同末端再結合を利用した組換えと相同組換えの 2 種類の組換え経路を使って修復しております。このいずれも、生物のほかの機能と非常にかかわっております。相同組換えというのは、先ほど言いましたように遺伝的多様性と非常にかかわっておりますし、今お話ししたように非相同末端再結合というのは免疫の組換えと非常に深くかかわっております。

それじゃ、DNA 修復と遺伝的組換えや免疫組換えとどちらが先かということが疑問になるわけなんですけど、相同組換えというのは大腸菌、細菌から保存されております。ところが、有性生殖を行う遺伝的多様性というのは大腸菌には必要がないわけですから、おそらく初めに DNA 修復があり、その機能が進化して遺伝的多様性に組み込んだんじゃないだろうかというぐあいに思われております。

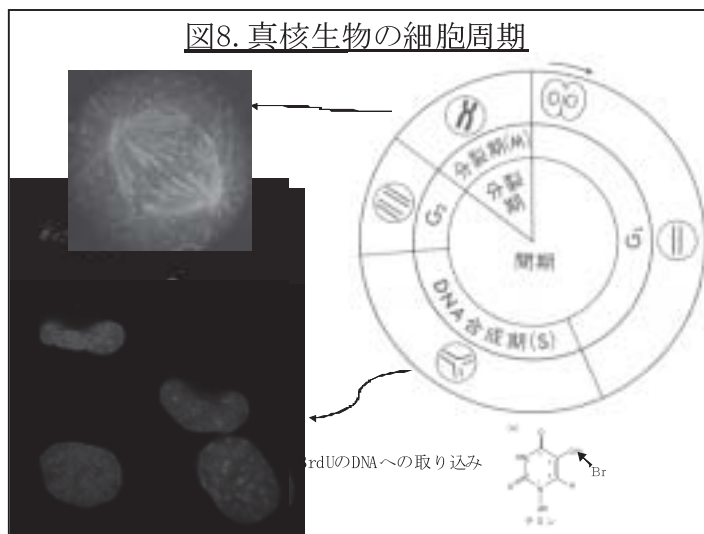
それは、先ほどの免疫組換えについても同じです。この非相同末端再結合機能は、酵母から持っております。酵母には免疫機能はないわけですから、免疫機能が発生する前からこの修復経路というのは持っておりまして、これをうまく免疫の進化に組み込んだのではないだろうかというぐあいに考えられます。

そういう例はほかにもあがる事が出来ます。染色体の末端にテロメアーという構造がありますけど、これは細胞の寿命、老化を決めるものだと言われております。詳しくは申し上げませんが、これにも放射線の修復たんぱくがかかわっております。それから、細胞分裂で重要な中心体の維持にもかかわっております。ナイミーヘン患者さんでは小頭症が症状の特徴ですが、最近我々は、この中心体の維持ができなくて患者さんの小頭症が発生するんだということを発見しました。それから、ウイルス感染にもかかわっているというぐあいに言われております。このように、生命の進化の過程において、修復経路というのは生物機能いろいろなところに転用されておりまして、私がこの研究に興味を持つ理由でもあります。

次に、チェックポイントの話をしますが、その前に細胞周期のおさらいをします。この写真は細胞分裂を示したものです。先ほどの中心体というのは、ここに染色体が並んでいますが、ここが中心体で染色体を二つの娘細胞に均等分割する支点です。この中心体にあの患者さんのたんぱくがかかわっているということがわかりました。それで話を細胞周期にもとに戻すと、この細胞分裂は、分裂から分裂までの間、ヒトの細胞ではおよそ 24 時間かかるんですけど、分裂は 1 時間で済んでしまいます。じゃ、ほかは何をやっているのかというこ

となんですけど、DNA 合成に非常に長い時間を費やしております。

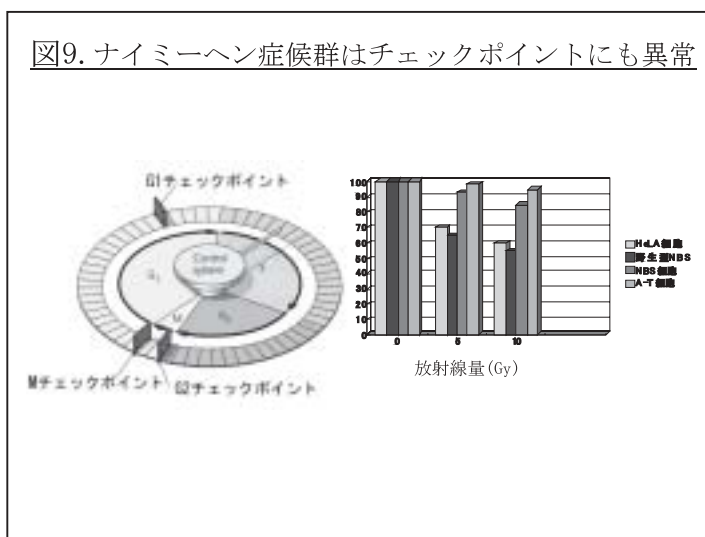
これを見ることができるのは DNA の前駆物質のチミンの取り込みですね。チミンの、このメチル基のところにブロム元素を入れてやりますと、これを顕微鏡で見えるような形にすることができます。この顕微鏡写真では、DNA 合成期にはたくさんのこういうブロム化されたチミン、BrdU という化合物で呼びますが、がたくさん取り込まれているというのが見えます。(図 8)



この DNA 合成期を外れると、ほとんどそれは見えなくなります。つまり DNA が活発に複製される時間と、そうじゃない部分と、それから細胞分裂する M 期がある事がわかります。この分裂から DNA 合成期、S 期といいますけど、との間をギャップ 1 というので G1、こちらをギャップ 2 というので G2 といっています。この M 期、G1 期、S 期、G2 期の 4 つの周期をヒト細胞はぐるぐるぐるぐる回っているというぐあいに理解されています。

そこで、この先ほどの DNA 合成を見てみますと、何もしないときを 100%とします。そして、これに放射線を 5Gy、10Gy というぐあいに照射しますと、DNA 合成は 70%あるいは 60%ぐらいまで減少してきます。これはどういうことかという、先ほどのように M 期、G1 期、S 期、G2 期とあるわけなんですけど、S 期のところで DNA の障害が起こると、DNA 合成をストップする。

ストップする理由は、傷があるので、このまま複製を続けると傷口がもっと広がりますよ



と細胞は認識して、DNA 合成をストップします。同じようなことが G1 や、G2 の終わり、あるいは M 期でも起こります。我々は、これを DNA の損傷の監視機構ということで、チェックポイントという名前呼びます。これは G1 チェックポイント、ここでは書いていませんけど、S 期のチェックポイントと言います。

ちょっとスライドが文字化けして見にくいけど、先ほどの患者さんでは、放射線照射してもほとんどこの

チェックポイントの機能が働かなくて、そのまま DNA 合成を続けているというのがわかるかと思います。(図 9)

それから、もう 1 つ説明しなければいけないのは、アポトーシスという現象です。これは

もともとギリシャ語の「枯葉が落ちる」という意味らしいんです。これは正常なカエルの発生ですけど、カエルの指の発生は水かきみたいな手を最初につくるんですね。そして、その後この指と指の間の細胞が死んで、こういうぐあいに凹んで指がきれいにでき上がっていくというんですね。発生の段階に細胞が死ぬように初めからプログラムが組まれているので、プログラム死というようなことも言います。そのアポトーシスは、細胞が泡状にフラグメンテーションを起こして、非常に特徴ある細胞の死に方をします。

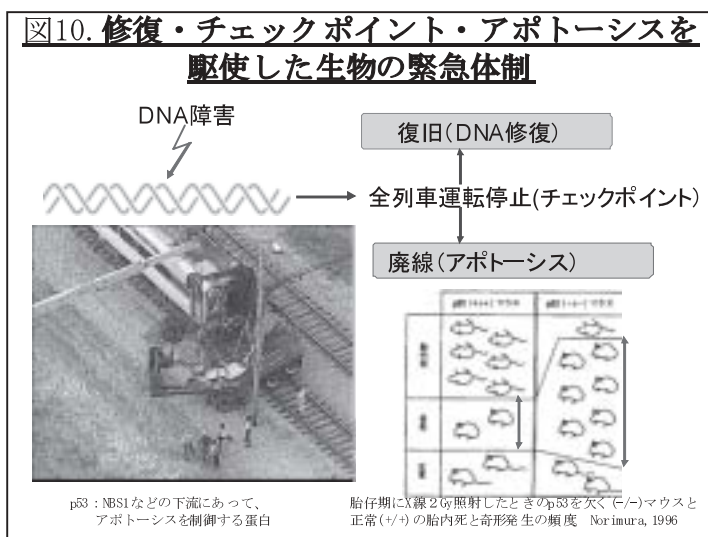
このアポトーシスは、発生の段階だけじゃなくて放射線照射の場合にも見ることができます。これはヒトのリンパ球を染めたものです。リンパ球は丸っこいものですからちょっと見にくいんですけど、この白く光っているのは生き生きとしている細胞です。これに放射線を、10Gy と比較的多い線量を照射すると細胞がつぶれて真っ黒く見えますね。細胞がアポトーシスによって死んでしまうという現象が起こります。

先ほどの修復、チェックポイント、アポトーシスのところをまとめてみます。これが DNA ですね。この DNA に障害が起こると、細胞はその傷を治そうとする DNA 修復が起こるわけですね。その前に DNA 合成をとめなきゃいけないというので、チェックポイント機能が働くわけですね。で、傷があまりにも多いと、細胞は修復するということをあきらめます。みずから死になさいというアポトーシスの指令を下すわけですね。修復して生き残るかアポトーシスで死ぬかという、この二者択一になるわけです。

これを、列車事故の例で説明します。ちょうど線路が DNA の二本鎖みたいなのが並んでいるわけなんですけど、ここに列車の事故が起こりますと、最初に細胞がやることは全列車の運転停止になります。これがチェックポイントに相当するかと思います。そして、クレーン車が来て、これを復旧するわけですね。つまり DNA 修復です。我々の世界ではこれで済むんですけど、細胞はそのほかに復旧をやめましょうというアポト

ーシスをやります。非常に特殊に見えますけど、これが生物にとって非常に重要なことは次の実験でわかります。(図 10)

P53 というアポトーシスのたんぱく、これは先ほどの患者さんのたんぱくの下流にあるといわれています。この P53 を破壊しますとアポトーシスが起らないわけですね。こちらは P53 が機能してアポトーシスが正常に起こるマウスです。起こるマウス、起こらないマウスに 2Gy の放射線を照射します。正常なマウスでは、2Gy 照射すると大体 2 割か 3 割に奇形が発生します。それから、半数は胎内で死んでしまいます。ところが、アポトーシスを起なくすると、マウスの子供は死なないんですね。先ほどの列車事故と同じです。この復旧放棄という機能がないわけですから、アポトーシスが起らないマウスでは生き残るわけですね。生き残る結果、何が起こるかという、奇形がぐーんと 2 倍ぐらいに増えるわけですね。



これは奇形の発生について言っているわけなんですけど、実はこの P53 というのは我々に起こるがんとも非常にかかわりが深くて、人のがん組織の半数はこの P53 に変異を持っているといわれております。ですから、このアポトーシス機能があるからこそ、我々のがんの発生というのは抑えられているわけですね。アポトーシス機能がないと、本来傷を持って死ななきゃいけない細胞まで生き残る。そのために最終的には突然変異、がんというぐあいにつながっていったって、その個体死にまで行き着いてしまうということですね。

ですから、このアポトーシスというのは非常に残酷な現象でありますけど、組織、個体、そういうものを維持するために必須の機能であります。それで、私、藤沢周平の小説に出てくる、江戸時代の切腹と似ているんじゃないだろうかと思います。こちらはヒト組織ではなく社会組織の維持ですね。当時は封建社会を維持するということで詰め腹を切らされるわけなんですけど、細胞もそういうことをやって、個体全体が生き残るようなシステムをつくり上げています。

以上が生物の危機管理についてのお話ですけど、もう少し最近の研究成果についてお話しします。先ほど言いましたパラドックス、我々がそう名づけた、放射線が発見されたのは最近なのに、なぜ生物は修復たんぱくが持っているのかということについては何の答えも出しておりません。我々の結果はこの答えの 1 つの暗示になるんじゃないかと思います。

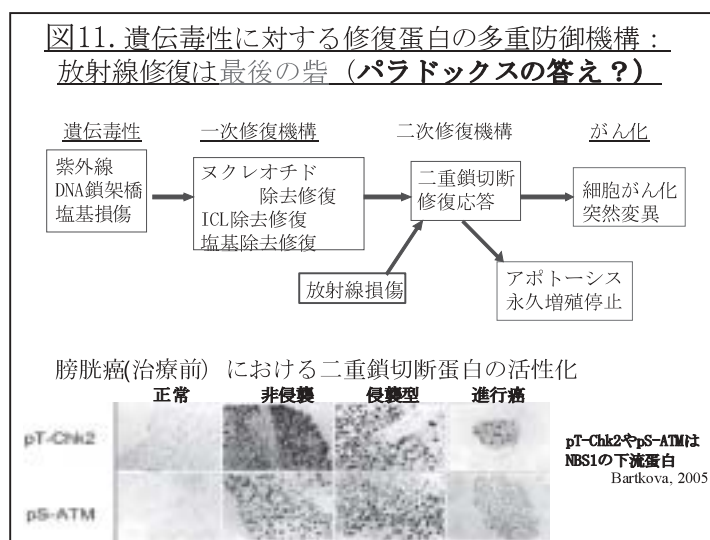
我々は、先ほどの患者さんは紫外線にも高い感受性を示すということを発見しました。なぜ今まで発見されなかったかというのと、これが正常な人のたんぱくなんですけど、患者さんでは一部これが発現しているんですね。おそらく、全く発現していないと患者さんは生まれてこなかったんだろーと思います。この一部発現しているということが、放射線には感受性ですけど紫外線には正常であるというように見えた訳です。我々は紫外線感受性を見過ぎていたと思うんですけど、これを完全に破壊したノックアウトマウスをつくります。そうしますと、紫外線にも感受性になる事が分かりました。放射線を照射したときに、このたんぱくは損傷部位にこういうぐあいに集まってきますけど、同様に紫外線の損傷部位にも集まってきます。この紫外線の高い感受性というのは、今日のお話の始めに出てきたヌクレオチド修復とは全く違う機構によって起こるものであります。

私の教室には、毎年春になると大学院修士の学生が教室に入ってきます。それで、実験のテクニックの習練のためにその学生さんたちにいろいろな薬剤、環境変異原で処理した後での免疫染色をしてもらいます。学生さんの技術によって違いますが、比較的よくできた染色の図をここで示します。これはアスベストを処理しています。アスベストというのは高度成長期に建築資材としてたくさん使われて、今ごろになって肺がんあるいは中皮腫発生ということで社会的な問題になっているわけですね。それから、ゲニステインという化合物があります。これは大豆の中に含まれている化合物なんですけど、抗腫瘍作用があるということも言われますけど、我々の間では、トポイソメラーズという DNA のねじれを直す、そういう酵素を阻害する作用があつて、非常に有毒な効果が知られております。

こういうのを処理しますと、先ほどの患者さんのたんぱくがこのように集まってきます。こちらの H2AX の方は、アスベストやゲニステイン処理によって傷ができたという証拠に染めてみたものなんですけど、確かに傷のできた細胞の部位に患者さんのたんぱくが集まってくるというのがよくわかります。

これは我々の今考えているモデルですけど、遺伝毒性を示すような紫外線、あるいは DNA 鎖架橋、塩基損傷みたいなものは DNA を傷つけます。そして、それに対して、生物はそれぞれの傷に対して特化した修復機構を発達させたわけですね。

先ほどは、ヌクレオチド除去修復を説明しました。その修復機構で取りこぼした傷に対して、ヌクレオチド除去修復の後に、二次修復機構があるんじゃないかというモデルですね。



それに対してこれが放射線の修復機構です。放射線というのはわずか 100 年前に発見されただけですので、ヌクレオチド除去修復に相当するような一次修復機構に欠けているわけですね。それで、直接二次修復機構でこの修復をするんだと。これがうまく働くと、細胞は、修復できる場合もありますけど、修復できない場合にはアポトーシスあるいは永久増殖停止でがんにならないように抑えているわけですね。逆に、これがう

まく働かないと、細胞がん化、突然変異、奇形というぐあいにどんどんどんどん悪化していくわけですね。(図 11)

そういう意味でこの機構は、修復の最後の砦じゃないかというぐあいに我々は今考えています。なぜ最後の砦かというと、これはデンマークの研究者たちが報告した実験結果ですけど、膀胱がんの例です。基本的にはほかのがんでも同じだと言われています。患者さんの正常組織、がんの初期、ほかの組織の中にがん細胞が入り込んだ状態の侵襲型、非常に進行した悪性のがん、この 4 つの組織型で比較します。先ほどの患者さんのたんばくと非常に関係が深い、実際にはそのたんばくの下流にあると言われているたんばくの活性化が、正常組織では何も起こらないですけど、がんの初期には非常に活発になっています。この黒く染まったところが、その活性化をあらわしているわけなんですけど、がんの悪性化の進行とともにこの活性化が抑えられていくということですね。

これは何を意味しているかというと、がん化が始まると、先ほどの二次修復機構が働いてがんになることを抑えている。アポトーシスあるいは永久増殖停止に持って行き抑制的に働く。ところが、がんがどんどんどんどん進行すると、もうその力がない。実は逆で、こういうたんばくに突然変異が起こって抑えようがなくなったものが悪性化が進行する。これは最終的な修復機構で、最後の砦じゃないかというぐあいに我々は言っているわけです。

今までは、紫外線や電離放射線、あるいはアスベスト、ゲニステインのような環境変異原が DNA を傷つけるというようなことをお話ししました。実は我々の体や細胞の内部でも既に DNA に傷をつける事があります。先ほど言いましたように、細胞 1 個の DNA は 2 メートル、その中には塩基数が 6 掛ける 10 の 9 乗個ですね。教科書には 3 掛ける 10 の 9 乗と書いてありますが、お父さんとお母さんの染色体に由来するものがありますから、その 2 倍の 6 掛ける 10 の 9 乗で、世界人口とほぼ同じ数の塩基になります。

このようにたくさんの塩基があると、その中の一部は熱力学的な不安定性、あるいは水分子が中に入り込んだりして間違いを起こす。その間違いの頻度を計算したものがこの表です。細胞 1 個に 1 時間当たりどれくらい間違いを起こすかというんですけど、脱プリンという、このようにグアニンやアデニンが切断されるのが 580 個、脱ピリミジンと呼ばれる、チジン、シトシンが除去されるものが 29 個、それから単鎖切断——DNA 鎖が切断されるものが 2,300 個というぐあいに、常に我々の細胞は傷ついているわけですね。一方、環境変異原、ここでは太陽光を言っているわけなんですけど、テキサスの昼に太陽光を浴びると、皮膚の細胞は 5 万個のピリミジン二量体が紫外線の傷として発生すると言われています。それに比べると圧倒的には少ないですけど、それでも我々の DNA は常に傷がついているんだということですね。ですから、言えることは、環境変異原だけでなく、内部で発生した傷に対しても先ほどの修復機構は常に働いているんだということですね。これが我々の発がんの原因にもなっている。

話のまとめをしますと、生物危機管理の特徴というのは、我々の細胞内では環境変異原及び自然発生により、DNA に無数の傷が常時発生しています。これに対して細胞は修復機構を備えています。その特徴は、多重防御であることです。ヌクレオチド除去修復みたいな一次的に働くものと、放射線で働くような二次修復機構と 2 種類あります。あるいはもっとあるのかもしれないですけど、少なくとも 2 種類あるということですね。それから、生物の危機管理が我々の危機管理と大きく違うのは、そういう組織個体維持のために細胞死を使うということですね。ここではハラキリだというぐあいに私は言っていますが、こういう細胞を殺すことによって隣接した細胞が増殖してそれを埋め合わせます。生物は簡単に、修復するよりも細胞を殺して再構築した方が早いと判断して、その個体ががんにならないように抑えているんだということですね。(図 12)

図12. 生物危機管理の特徴

- 1) 我々の細胞内では、環境変異原および自然発生によりDNAの無数の傷が常時発生している。
- 2) これに対して、いくつかの修復機構でDNAの傷を多重防御している。
(放射線損傷の修復機構は最後の砦か?)
- 3) 組織、個体維持のために細胞死を誘導する。
(アポトーシスと呼ばれるハラキリがある)

時間になりますので簡単に説明しますが、このような研究がどういうことに役に立つかということを見たスライドです。シスプラチンはがん治療をやっている先生に聞くと、制がん作用では非常に有効なものだそうです。これは DNA 鎖の間に入り込むタイプの DNA の傷を作ります。それから、もちろん放射線もがんの治療に使われておりますけど、先ほどの患者さんのたんぱくを破壊すると、シスプラチンや放射線に対して非常に感受性が高くなります。ということは、あの患者さんのたんぱくをうまく破壊することによって、制がん剤治療、あるいは放射線治療ということに対して増感を持たせることができます。この研究はそういう利用法が考えられます。

それから、最後に、我々の施設の紹介をしますと。放射線生物研究センターは全国共同利用施設として、京都大学だけでなく全国の大学、研究機関に対してサービスをしており

ます。どういうサービスかというと、放射線の照射装置を提供する。それから、実験技術を提供する、あるいは、これは今年の春に行われる予定のワークショップなんですけど、こういうワークショップを開催して研究情報の交換を促進します。放射線生物研究センターは、研究だけでなくこういうサービスもする研究施設です。

以上が私の話であります。ご清聴ありがとうございます。(拍手)