

学 位 審 査 報 告 書

(ふ り が な) 氏 名	おかだ たくや 岡田 卓也
学位 (専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 号
学位授与の日付	平成 年 月 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	理学研究科 生物科学 専攻
(学位論文題目) 放射線による微小核生成機構	
論 文 調 査 委 員	(主査) 渡邊 正己 教授 田野 恵三 准教授 沼田 英治 教授

京都大学	博 士 (理 学)	氏 名	岡 田 卓 也
論文題目	放射線による微小核生成機構		
(論文内容の要旨) X線により誘発される微小核は、放射線を被ばくした細胞で容易に見られる異常であり、放射線影響を定量するために汎用される指標である。しかし、その生成経路は明らかにされているとはいえない。放射線の標的はDNAであること、微小核は細胞核の断片でありDNAが主構成成分であること、微小核生成頻度は被ばく線量に比例することなどを総合的に考えると「微小核発生の起源はDNA切断である」という考え方が広く受け入れられてきた。この考え方は、X線照射された細胞におけるDNA二重鎖切断修復機構の欠陥が微小核生成の増加につながるという報告などで支持される。しかしその一方で、微小核はDNA切断を直接の起源とせず細胞分裂期における染色体分離機構の不調が原因となって「染色体の分離異常」の結果生じたものである可能性も示唆され、微小核生成の機構は、依然、明らかとされていない。 こうした背景にあって、申請者は、多くの研究結果が、放射線被ばくした細胞における微小核誘導がDNA損傷を起源として起きると想定すると矛盾が生ずることを示唆することに注目した。なぜなら、DNA損傷起源説では、微小核が生成するために被ばくした細胞は細胞分裂期を通過せねばならないが、DNA二重鎖切断が生じた細胞では厳密な細胞周期チェックポイントが働き細胞周期の進行が抑制され容易に細胞分裂期に到達しない。この二つの事象は、微小核がDNA二重鎖切断を起源とするという考え方のもとでは両立しない。申請者は、この矛盾を基に「放射線による微小核生成経路にDNA二重鎖切断を起源としない経路がある」との仮説を提案し、その仮説の是非を検証するために研究を行った。 申請者は、この矛盾を明らかにするために、G1期においてX線により誘導されるDNA二重鎖切断が微小核生成に直接つながるのかどうかを、分子生物学的手法を駆使して詳細に調べた。実際には、ヒト正常胎児線維芽様細胞 (HE17) を、特性の違う二種のラジカルスクベンジャー、すなわち活性酸素ラジカルを捕捉する能力があるジメチルスルホキシド (DMSO) および活性の低い長寿命ラジカルを捕捉する能力のあるアスコルビン酸 (AsA: ビタミンC) で処理したのち、X線照射し誘発されるDNA二重鎖切断および微小核生成動態を詳細に観察した。DNA二重鎖切断は53BP1フォーカスを指標に定量した。 その結果、アスコルビン酸処理 (5mM) では、細胞死やDNA二重鎖切断誘導を抑制できなかったが、ジメチルスルホキシド処理 (5mMまたは256mM) では、細胞死やDNA二重鎖切断誘導を抑制する効果が認められることが判った。一方、ジメチルスルホキシド処理 (5mMまたは256mM) は微小核生成を抑制する効果は認められなかったが、アスコルビン酸 (5mM) 処理では明確な抑制効果が認められることが判った。 この発見には、従来の放射線生物学の分野の常識を否定するいくつかの新知見が含まれている。まず、ビタミンCは、従来、酸化ラジカルの代表的スクベンジャーとして考えられ、X線により誘発される細胞死やDNA二重鎖切断を抑制できると考えられていたが、そうした能力がないことを明らかにした。それでありながら微小核生成を抑制できる。ESRを使った研究では、ビタミンCは放射線誘発の酸化ラジカルを捕捉できずDNA切断を抑制できないことが明らかになった。更に、活性酸素ラジカルスクベンジャーであるDMSO処理は、細胞死やDNA損傷を抑制できるものの微小核生成を抑制できないことが判った。これらの結果は、「放射線により誘発される微小核生成はDNA二重鎖切断が原因となって生ずる」とするこれまでの放射線生物学の常識を覆す極めて新規性が高いものであるとともに、放射線による遺伝的影響の発現に必ずしもDNA損傷が必要でない可能性を示唆する極めて重要な知見である。			

(論文審査の結果の要旨)

本論文は、「放射線で誘導される微小核は DNA 切断を起源として生成する」という常識的なパラダイムの矛盾に注目し、その矛盾を解決するために実施された研究である。作業仮説の設定の仕方、その作業仮説を証明するための研究計画の組み立て方に無理がなく、既存の概念にとらわれない柔軟な発想で研究が展開されていると感じられる。得られた結果は、放射線の遺伝的影響が、「DNA 損傷⇒染色体異常⇒突然変異⇒発がん」という単純な既存のセントラルドグマに沿った経路で発現するというパラダイムに真っ向から反するものであるが、その結論は、論理的に導かれていると評価できる。

得られた結果を基に申請者は、放射線による微小核誘導の主経路は DNA 損傷を起源としている可能性は少ないと結論した。そして、微小核生成経路には少なくとも三経路が存在し、その第一の経路は、DNA 損傷を起源とする経路で全体の 2.5%程度に留まる。第二の経路は、DNA 損傷を起源とせず、細胞分裂期において完全な染色体の取り残しを介する経路である。生成する微小核はセントロメアを持ち全体の 26%を占める。第三の経路は、第二経路と同様に DNA 損傷を起源としないが、セントロメアを含まない微小核を生成するもので全体の 70%強を占める。しかし、本研究では、第三の経路の具体的な仕組みを明らかにすることはできずその存在を指摘するに留まった。しかし、当初の予想を超え更に未知の経路が存在することを明確に指摘した学術的意義は大きい。

これらのことを総合的に判断すると、申請者は、研究者としての独創的着想力、問題解析力および問題解決力を備えており独立した研究者として活動するレベルに達していると判断できる。

以上の審査結果に基づいて、本論文は博士（理学）の学位論文として価値あるものと認める。また、平成 24 年 1 月 18 日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った。その結果合格と認めた。