

MS4-2

リン酸化ヒストン H2AX は DNA 損傷の 高感度検出指標となる

若山朱¹、鈴木啓司¹、児玉靖司²、渡邊正己¹
長崎大学大学院医歯薬学総合研究科放射線生物学¹、大阪府立大学先端科学研究所²

A new method of detecting DNA damage using phosphorylated histone H2AX
Wakayama Aya¹, Suzuki Keiji¹, Kodama Seiji², WATANABE, Masami¹
¹Div. Radiat. Biol., Grad. Sch. Med., Nagasaki Univ.,
²Res. Inst. Adv. Sci. Tech., Osaka Pre. Univ.

【緒言】

細胞に DNA 二重鎖切断が誘発されると、細胞は非相同末端融合修復(non-homologous end joining ;NHEJ)、単鎖アニーリング修復(single-strand annealing ;SSA)、相同組替修復(homologous recombination ;HR) など複数の DNA 損傷修復経路により損傷を修復する。DNA 二重鎖切断の再結合が行われた細胞は生き残ることができ、その再結合部位は、安定化し正常な部位と同様に子孫に伝えられると考えられてきた。しかし近年、放射線照射により生成した DNA 二重鎖切断を再結合し生き延びることができた細胞の中に、何十回もの分裂を経た後に、遅延的に様々な遺伝的変化を生ずる状態、いわゆる“遺伝的不安定性”が誘導されることが明らかになった¹⁻³⁾。このことは、DNA 二重鎖切断が再結合した後に依然としてなんらかの異常が残っていることを示唆しており、それを我々はクロマチン構造の異常だと考えている。

この考えが妥当ならば、DNA 二重鎖切断に伴って生ずるクロマチン構造変化量は、DNA における初期損傷量に関係すると思われる。そこで本研究では、DNA 二重鎖切断に伴って生ずるクロマチン構造変化により誘導されると考えられるヒストン H2AX のリン酸化を指標にして、DNA 損傷を鋭敏に検出する系の確立を試みた。

【結果】

正常ヒト二倍体細胞に 0.5-4Gy の X 線を照射し、照射 1 時間後にサンプリングした染色体に見られ

たリン酸化 H2AX フォーカスの出現動態を、抗リン酸化 H2AX 抗体を用いた蛍光免疫染色法により調べた。その結果、染色体あたりに出現するリン酸化 H2AX のフォーカス数は線量依存的に増加するとともに、切断などの染色体レベルで異常が観察された染色体の異常部位の全てにフォーカスが生じていることがわかった。しかし、リン酸化 H2AX のフォーカスは、染色体異常が見られなかった部位でも線量依存的に出現し、その頻度は染色体異常頻度のおよそ 11 倍にも達することが判った(図 1)。

【考察】

放射線照射後の細胞において、ほぼすべての染色体異常部位にリン酸化 H2AX のフォーカスが認められたことは、ヒストン H2AX のリン酸化が DNA 二重鎖切断の修復に伴って生じるクロマチン構造変化により誘導されることを示している。しかし、染色体異常の存在しない部位にも高頻度にリン酸化 H2AX のフォーカスが検出された。これらのフォーカスはおそらく、DNA 二重鎖切断が再結合後に染色体異常を伴わずに残っているクロマチン構造の変化を示していると予想している。さらに照射後 1 時間後において染色体 1 本あたりのフォーカス数が染色体異常数のおよそ 11 倍多く検出されたことは、本研究で用いたリン酸化 H2AX のフォーカスを検出する方法が、従来の染色体異常検出系よりもより高感度な DNA 損傷検出系であることを示唆している。

【結語】

以上の結果、本研究で用いたリン酸化 H2AX のフォーカスを検出する方法は従来の染色体異常検出系では検出することが不可能であった DNA 二重鎖切断の再結合後に残るクロマチン構造異常を検出できることを示唆しており、極めて鋭敏な DNA 損傷検出法としての利用が期待される。

【文献】

- 1) Morgan WF, Day JP, Kaplan MI, et al: Genomic instability induced by ionizing radiation. *Radiat Res.* 146: 247-58, 1996.
- 2) Little JB: Radiation-induced genomic instability. *Int J Radiat Biol.* 74: 663-71, 1998.
- 3) Suzuki K, Ojima M, Kodama S, et al: Radiation-induced DNA damage and delayed induced genomic instability. *Oncogene* 22: 6988-93, 2003.

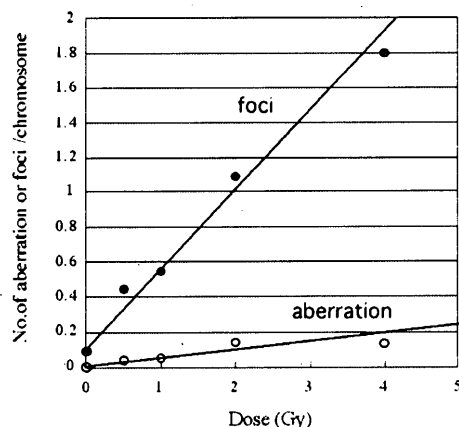


図1 線量と染色体異常、フォーカス数との関係