



***** ベストプレゼンテーション賞受賞の言葉 *****

秦野賞を受賞して



静岡県立大学大学院
食品栄養環境科学研究所
成道 舞

この度は日本環境変異原学会第 53 回大会にて発表させていただいた「UVA1 と UVB の複合曝露による DNA 二本鎖切断の形成と Mre11 の関与」をベストプレゼンテーション賞（秦野賞）に選出頂きまして、大変光栄に思っております。日頃より、丁寧にご指導くださる伊吹先生や小牧先生をはじめ、研究室の皆様のお力添えのおかげでございます。また、数ある素晴らしい研究の中、本研究をご評価くださいました評議員の先生方、発表の際に貴重なご意見をくださいました先生方に厚く御礼申し上げます。

私たちが日常的に曝露されている紫外線は、長波長紫外線 UVA1 (340-400 nm) が 75%ほどを占めており、UVB (290-315 nm) はわずか 5%です。UVB 単体の影響はこれまでに多くの研究がなされてきましたが、UVA1 単体や UVB との複合曝露による影響については知見が少ないのが現状です。我々のこれまでの研究から、ヒト表皮角化細胞 (HaCaT) に UVA1 を高線量曝露させると、UVB による細胞死が増強されることが明らかになっていました。本研究では UVA1 と UVB の複合 (UVA1+UVB) 照射で起こる細胞死亢進の原因について検討したところ、UVA1+UVB 照射では最も重篤な DNA 損傷である DNA 二本鎖切断 (DSBs) が生成することを明らかにしました。

HaCaT 細胞に UVA1 を照射した後 UVB を照射し、バイアス正弦電場ゲル電気泳動法で DSBs を検出しました。

その結果、UVA1、UVB 単体ではわずかにしか DSBs は検出されませんでした。UVA1+UVB 照射では顕著に検出されることを示しました。また、DNA 損傷マーカーである γ -H2AX を検出したところ、DSBs 生成と同様に UVB 照射時よりも UVA1+UVB 照射で顕著に増加しました。これらの結果から、UVA1、UVB 単体では DSBs はほとんど生成されませんが、UVA1 と UVB が両方曝露されると DSBs が生成することが明らかになりました。

次に、なぜ UVA1+UVB 照射で DSBs が増加するのかを明らかにしたいと思い、DSBs の生成メカニズムについて検討しました。そこで注目したのが細胞内 Nuclease である Exo1 と Mre11 です。Exo1 は 5'-3' exonuclease 活性、Mre11 は endonuclease 活性および 3'-5' exonuclease 活性を持っています。これらは DNA 損傷修復に関わり、DSB 修復機構の Homologous recombination では DSB 末端の削り込みを行います。Exo1 や Mre11 は、このように修復を促進させる一方で、複製ストレス時には新生鎖 DNA を分解し、さらに DNA に切れ目が入ることで DSBs が生成される可能性も示唆されています。我々は、UVA1+UVB 照射で起こる DSBs 生成に Exo1 と Mre11 が寄与していると考えました。Exo1 や Mre11 をそれぞれ knockdown し DSBs を検出すると、UVA1+UVB 照射で増加した DSBs は Exo1 欠損、Mre11 欠損により抑制されることが示されました。Mre11 は endonuclease 活性と 3'-5' exonuclease 活性の両方を持つため、それぞれの活性阻害剤を作用し DSBs を検出したところ、endonuclease 活性の阻害時に DSBs 形成が顕著に減少しました。これらの結果から、Exo1 の 5'-3' exonuclease 活性や Mre11 の endonuclease 活性が UVA1+UVB 照射で起こる DSBs 形成に関与することが明らかになりました。

本発表では多くの先生方から貴重なご意見をいただきました。口頭発表の際には、実験で用いた UVA1、UVB 照射量と実際の太陽光の照射量についてご質問いただきました。

本実験では UVA1 の影響について検討するため、実際の太陽光と比べると、UVB 照射量に対して UVA1 を過剰量照射しています。太陽光と同じような条件にした場合、UVA1+UVB 照射による DSBs 形成や細胞死の亢進は見られなくなると考えていますが、線量の問題はこれから検討すべき重要な点と再認識しました。また、ポスター発表の際にはヌクレオチド除去修復 (NER) に関わる因子を欠損させたら DSBs が生成しなくなるのではないかというご意見もいただきました。大会の後、NER に関わる XPC や XPA を欠損させた細胞を用いて検討したところ、UVA1+UVB 照射での DSBs 形成が起こらなかったことから、UVA1+UVB 照射で起こる DSBs 形成は NER で生成した DNA ギャップが起因となっている可能性を確認できました。

今回の発表では皆様から多数の貴重なご意見をいただき、大変勉強になりました。今回の受賞を励みに今後さらに研究を進めてまいります。今後ともご指導ご鞭撻のほどよろしくお願いいたします。

エルゼビア賞を受賞して



広島大学
統合生命科学研究科
濱田 優作

この度は日本環境変異原ゲノム学会第 53 回大会においてベストプレゼンテーション賞 (エルゼビア賞) を頂き、大変光栄に思います。日頃より親切丁寧にご指導いただいております津田雅貴先生をはじめとする、研究遂行を支えていただいたすべての皆様に感謝申し上げます。また数ある素晴らしい研究の中、本研究を評価してくださいました評議員の先生方、貴重なご意見をくださいました先生方に厚く御礼申し上げます。

私は、この度の学会で「相同組換え中間体解消における動的変化の可視化」という演題名で発表いたしました。DNA 修復機構の解明に焦点を当てた基礎的な研究にもかかわらず多くの方に興味を持っていただけたことを嬉しく思います。この場をお借りして本研究の内容について簡単にご紹

介させていただきます。

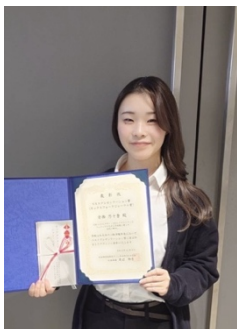
放射線や環境変異原によって引き起こされる DNA 二本鎖切断 (DSB) は細胞毒性が高く、その不完全な修復は細胞死やゲノム不安定化を引き起こします。相同組換え (HR) は DSB を正確に修復する経路です。HR 過程ではホリデイジャンクション (Holliday junction: HJ) という DNA 4 本鎖からなる中間構造が形成され、これを解消することが HR の完了に不可欠です。その解消経路の一つとして、リゾルベース (ヌクレアーゼ) による「Resolution」が挙げられます。しかし、リゾルベースと HJ 構造を同時に可視化できる実験系が存在しないため、リゾルベースが HJ 構造をどのように解消しているのか、その動的な変化は明らかではありません。そこで、リゾルベースによる HJ 解消の構造的・機能的ダイナミクスを可視化できる実験系を新たに構築することを試みました。

この目標を実現するために私たちは高速原子間力顕微鏡 (HS-AFM) に着目しました。HS-AFM は試料の表面を非常に細かいプローブでスキャンすることによって表面の形状や物理的性質を計測する技術であり、従来の AFM の時間分解能を改善することによって 1 秒以下の時間スケールのイメージングを可能です。さらに液体中での測定が可能であるため、生体分子の観察に有用であり、様々なタンパク質のダイナミクスが調べられています。従って HS-AFM は、Resolution における HJ とリゾルベースの両方を同時に可視化できるのではないかと考えました。

モデルタンパク質として大腸菌由来のリゾルベースである RuvC タンパク質を用いて、HJ 構造の直接観察及び RuvC による切断過程の詳細を評価しました。その結果、RuvC は HJ に特異的に結合し、 Mg^{2+} 存在下においてのみ効率的に HJ を切断することを示すことができました。今後は、本実験系をヒトのリゾルベースタンパク質複合体に応用することで、よりダイナミックな HJ 解消機構のさらなる理解が進むことが期待されます。

今回の学会では、皆様から貴重なご意見を多数いただきました。また鋭いご指摘もあり大変勉強になりました。さらにベストプレゼンテーション賞を頂いたことも今後の人生の励みとなります。拙い文章となりましたが、最後までお読みいただき誠にありがとうございました。今後とも何卒よろしくお願いいたします。

オックスフォードジャーナル賞を受賞して



千葉大学
理学部生物学科
古西 乃々香

この度は、日本環境変異原ゲノム学会第 53 回大会において、ベストプレゼンテーション賞（オックスフォードジャーナル賞）をいただき、誠に光栄に存じます。本研究をご評価いただきました評議員の先生方、また発表の際に貴重なご意見を賜りました先生方に、この場を借りて心より御礼申し上げます。このような素晴らしい賞をいただけましたのも、日頃より懇切丁寧にご指導くださる佐々先生をはじめ、研究室の皆様の多大なるご支援のおかげと深く感謝しております。さらに、発表の機会を与えてくださいました実行委員会の先生方にも厚く御礼申し上げます。本研究が多くの先生方の目に留まり、また、学会の場でこのように評価いただけたことを大変嬉しく思っております。

私は今回の学会で「*O*⁶-メチルグアニン DNA メチルトランスフェラーゼが炎症応答制御に果たす役割の解明」というテーマで発表しました。*O*⁶-メチルグアニン DNA メチルトランスフェラーゼ (MGMT) はグアニンに生じたメチル化損傷に対して自身の活性部位にメチル基を転移させることで修復を行う酵素です。MGMT は一部のがん細胞で発現していないことが知られていますが、その意義は良く分かっていません。ヒトリンパ芽球細胞 TK6 でも同様に、MGMT の発現はエピジェネティックに不活化されています。そこで、MGMT の発現が及ぼす生理学的影響を調べるために、TK6 において MGMT を発現復帰させた TK6MG 株を樹立し、TK6 との遺伝子発現動態の比較解析を行いました。すると、TK6MG では NLRP3 や CASP1 などの炎症応答関連遺伝子の発現が減少していたことが判明しました。

そこで次に、炎症の抑制に MGMT の活性が重要なのか、タンパク質自体が重要なのかを確かめるため、活性部位に変異を導入した MGMT C145A を発現させた TK6C145A 株を新たに樹立して遺伝子発現変動を解析しました。その結果、TK6C145A 株では炎症応答遺伝子の発現抑制はみられませんでした。つまり、炎症応答の抑制には MGMT の活性が重要であると考えられました。

NLRP3 や CASP1 は ROS (活性酸素種) が引き起こすインフラマソームの活性化の重要な制御因子です。ROS は、ミトコンドリアの電子伝達系やペルオキシソーム、ファゴソームといった細胞内小器官で自然に生成され、エネルギーの産生や食細胞による殺菌作用や細胞内のシグナル伝達系において重要な役割を果たしています。たとえば、Ras 経路、p38、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ (MAPK) 経路、さらには PI3K-Akt-mTOR 経路を通じて、細胞の増殖やアポトーシス、細胞老化、オートファジーなどさまざまな細胞応答を制御しています。また、NLRP3 インフラマソームや核因子 κ B (NF- κ B) 経路を通じて炎症反応の調節にも寄与するなど、多岐にわたる生理機能が近年解明されつつあります。最近では酸化ストレスが発癌のみならず癌の浸潤や転移など、癌の進展にも深く関わっていることが明らかになっています。したがって、MGMT が ROS の抑制という新たな機能を介して、炎症応答関連遺伝子の発現を制御しているのではないかと考え、*in vitro* での MGMT の酵素機能解析を含めて研究を進めています。

拙い文章となりましたが、最後までお読みいただき誠にありがとうございました。私はまだ大学 4 年生で研究を始めたばかりではありますが、この度の受賞を大変励みに感じております。これを機に研究への姿勢をさらに深め、本研究をより一層発展させていけるよう努力してまいります。至らぬ点も多々あるかと思いますが、今後とも皆様のご指導・鞭撻のほど、よろしくお願い申し上げます。

大会会長賞を受賞して



大阪公立大学大学院
理学研究科生物化学専攻
玉置 喜大

この度は日本環境変異原ゲノム学会第 53 回大会におきまして、表表演題「完全ヒト型変異を持つホルムアルデヒド代謝酵素不全マウスの確立とそのフェノタイプ」に対し、ベストプレゼンテーション賞（大会会長賞）をいただき、大変光栄に思っております。

この度の受賞は、共同発表者と環境分子毒性学教室（川西研究室）スタッフはじめ研究室の皆さまのお力添えのおか

げでございます。また、多くの優れた研究がある中、本研究をご評価くださいました大会長の渡辺雅彦先生、評議員の先生方、貴重なお時間を割いて発表に対するご意見を下さいました先生方に心より感謝申し上げます。この場をお借りして本研究の背景と内容について簡単にお話しさせていただきます。

ホルムアルデヒドはヒストンの脱メチル化などの生体内の現象により一定濃度の内因性ホルムアルデヒドが産出され、1炭素源として利用されており生命活動において必要不可欠な物質です。このホルムアルデヒドは、主にアルコール脱水素酵素である ADH5 で代謝され、ギ酸に分解されます。また、アセトアルデヒド分解酵素である ALDH2 がバックアップ酵素として働き、ホルムアルデヒドの代謝を手助けします。このホルムアルデヒドは生体内で蓄積することにより DNA 鎖間架橋、DNA-タンパク質架橋や DNA モノ付加体などの DNA 障害、さらにはタンパク質付加体を形成します。そのため、ホルムアルデヒド代謝機能が欠損すると、体に様々な障害を与える可能性があると考えられています。

これまで我々のグループにおいて、*Adh5* と *Aldh2* を二重欠損させたホルムアルデヒド代謝不全マウスを作製しました。*Adh5/Aldh2* 二重ホモ欠損マウスは顕著な低身長かつ低体重となり、さらにこれらのマウスは離乳時期前後に死亡することを 2020 年に初めて本学会学会誌「*Genes and Environment*」に報告しました。その後、他の研究グループにより、ヒトにおいて ADH5 と ALDH2 の二重機能不全が ADH5/ALDH2 欠損症を引き起こすことが報告されました。*ALDH2* には遺伝子多型が存在し、活性型の *ALDH2*1*、不活性型の *ALDH2*2* があります。日本人の約 50% が *ALDH2*2* を持つと言われており、飲酒により顔が赤くなるレッドフラッシュ反応を呈することが分かっています。ADH5/ALDH2 欠損症は、この *ALDH2*2* アレル保持者が *ADH5* の両アレル変異を同時にもつことで、ALDH2 と ADH5 の両方の機能が失われ、ホルムアルデヒドが生体内に蓄積することで発症します。ヒトの ADH5/ALDH2 欠損症では、血球減少症や骨髓異形成症候群、さらに低身長や知的障害などの臨床症状が 100% 認められています。この ADH5/ALDH2 欠損症の病態解析を目的として、これまで

に *Adh5/Aldh2* ダブルノックアウト (*dKO*) 型あるいは、*Adh5* ノックアウト (*KO*)/*Aldh2* ヒト変異ノックイン (*KI*) 型マウスが作製され、用いられています。*Adh5/Aldh2 dKO* 型あるいは *Adh5 KO/Aldh2 KI* 型の両方のマウスでヒトの臨床症状である低身長となることが示されており、さらに *Aldh2/Adh5* 不全マウスは高確率で離乳時までに死亡することも報告されています。しかし、これまでに *Adh5/Aldh2* の両遺伝子にヒト変異をノックインした完全ヒト型 *Adh5/Aldh2 dKI* マウスは報告されていません。そこで本研究では、ADH5/ALDH2 欠損症でみられるヒト型変異をノックインした完全ヒト型の *Adh5/Aldh2* ダブルノックイン (*dKI*: *Adh5^{Def/Def}/Aldh2^{*2/*2}*) マウスを作製し、低身長、知的障害について評価しました。結果として、このモデルマウスでもこれまで報告されている ADH5/ALDH2 欠損症モデルマウスと同様に顕著な低身長かつ、低体重を示しました。さらに、二重ホモ変異マウス (*Adh5^{Def/Def}/Aldh2^{*2/*2}*) は生後約 1 ヶ月で死亡することも確認されました。そのため、*Adh5^{Def/Def}/Aldh2^{+/*2}* マウスを用いて 3 ヶ月体重を測定したところ、野生型マウスと比べて発育遅延が確認されました。また、血中の内因性ホルムアルデヒド濃度は *Adh5^{Def/Def}/Aldh2^{+/*2}* マウスで野生型マウスと比べて有意な増加を示しました。知的障害については、行動解析を行い評価しました。その結果、Y 字迷路試験において *Adh5^{Def/Def}/Aldh2^{+/*2}* マウスで有意な学習記憶能力の低下が確認されました。

これらの結果より、本研究で作製した完全ヒト型 *Adh5/Aldh2 dKI* マウスにおいて、これまで報告されていたノックアウト型マウスと同様にヒトの ADH5/ALDH2 欠損症で認められるような低身長、知的障害が示されました。今後は血液異常についても評価する予定です。また、完全ヒト型 *Adh5/Aldh2 dKI* マウスを用いて ADH5 および ALDH2 の賦活化剤の開発が可能になる可能性があると考えています。

拙い文章にも関わらず、最後までお読みいただきありがとうございました。今回の受賞を励みに、より一層精進して研究に取り組みたいと思います。今後とも、ご指導、ご鞭撻のほど、お願い申し上げます。