

G1期では非相同末端結合、S期では、相同組み換えに関与することが報告されているが、G2/Mチェックポイントへの寄与は報告されていない。更なる研究により、放射線照射後の細胞応答におけるRAD18の新規機構の解明が期待される。

以上の結果から、RAD18は放射線照射後の損傷応答を誘導することにより、G2/Mチェックポイントの活性化に寄与することが示唆された。

今後、複製後修復機構を制御するRAD18の放射線応答への寄与を解明することにより、複製後修復機構が放射線被ばく後のゲノム修復や突然変異誘発に果たす役割を明らかにすることができると思われる。更なる研究が、放射線発がん機構の新しいメカニズム解明に役立つと期待され、放射線の発がんリスク評価や新たな放射線治療法の開発につながるといえる。

E. 結論

RAD18が中心的役割をなす複製後修復機構は、様々なゲノム損傷に対応しゲノムを防護しその恒常性を維持する複雑な生体応答システムの一つである。

放射線発がんにおける複製後修復機構の解析を行うため、複製後修復機構の制御因子であるRAD18の放射線応答への寄与について調べた。今年度の研究により、RAD18は放射線照射後の損傷応答を誘導することにより、G2/Mチェックポイントの活性化に寄与することが示唆された。今後、複製後修復機構を制御するRAD18の機能解析を進めることで、放射線被ばく後のゲノム修復や突然変異誘発に果たす役割が明らかにされ、最終的には放射線発がん機構の解明に役立つと期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. de Groote FH, Jansen JG, Masuda Y, Shah DM, Kamiya K, de Wind N and Siegal G: The Rev1 translesion synthesis polymerase has multiple distinct DNA binding modes. *DNA Repair* ; 10: 915-925, 2011.
2. Toyoshima M, Honda H, Watanabe H, Masuda Y, Kamiya K: Development of a sensitive assay system for tritium risk assessment using Rev1 transgenic mouse. *Fusion Science and Technology* ; 60: 1204-1208, 2011.
3. Masuda Y, Suzuki M, Kawai H, Suzuki F and Kamiya K: Asymmetric nature of two subunits of RAD18, a RING-type ubiquitin ligase E3, in the human RAD6A-RAD18 ternary complex. *Nucleic Acids Research* ; 40(3): 1065-1076, 2012.
4. Masuda Y, Kamiya K: Molecular nature of radiation injury and DNA repair disorders associated with radiosensitivity. *Int J Hematol* ; 95(2): 239-245, 2012.
5. 笹谷めぐみ, 増田雄司, 神谷研二: APC Min/+マウスにおける放射線誘発消化管腫瘍の解析. *広島医学*, in press.
6. 増田雄司, 笹谷めぐみ, 神谷研二: 放射線によって誘発されるDNA損傷に対する複製後修復経路の機能解析. *広島医学*, in press.
7. 河合秀彦, 曹麗麗, 飯塚大輔, 松井啓隆, 金井昭教, 稲葉俊哉, 増田雄司, 笹谷一豊島めぐみ, 神谷研二, 鈴木文男: 恒常的な放射線照射に対する細胞応答の線量率依存性の解析. *広島医学*, in press.

2. 学会発表

1. 増田雄司: 突然変異誘発経路の制御機構～PCNAのエピキチン修飾の生化学的解析から. 平成23年度 日本環境変異原学会

- 公開シンポジウム，東京都，5/28/2011。（講演要旨集，p.10，2011）
2. 増田雄司，笹谷めぐみ，神谷研二：放射線によって誘発されるDNA損傷に対する複製後修復経路の機能解析．第52回原子爆弾後障害研究会，広島，6/5/2011。（講演要旨集，p.36，2011）
 3. 笹谷めぐみ，増田雄司，神谷研二：APCMin/+マウスにおける放射線誘発消化管腫瘍の解析．第52回原子爆弾後障害研究会，広島，6/5/2011。（講演要旨集，p.40，2011）
 4. 増田雄司，鈴木美紀，神谷研二：RAD6-RAD18複合体の構造と機能．変異機構研究会・第24回夏の学校，小牧，7/9/2011。（講演要旨集，p.18，2011）
 5. 増田雄司，鈴木美紀，神谷研二：ヒトPCNAのユビキチン化酵素RAD6-RAD18複合体の解析．日本遺伝学会第83回大会，京都，9/21/2011。（講演要旨集，p.104，2011）
 6. Y Masuda, M Suzuki, K Kamiya:DNA damage tolerance and molecular mechanism of PCNA ubiquitination. 14th International Congress of Radiation Research, Warsaw, 8/30/2011. (Abstracts, p.144, 2011)
 7. M Sasatani, H Honda, K Hamasaki, Y Kusunoki, Y Masuda, K Kamiya: The role of Rev1 in radiation and chemical-induced tumor development using Rev1 Tg mice. 14th International Congress of Radiation Research, Warsaw, 9/1/2011. (Abstracts, p.312, 2011)
 8. 神谷研二：放射線被曝と発がん危険度評価．第70回 日本癌学会学術総会 特別企画 市民公開講座，名古屋，10/1/2011.
 9. 増田雄司，神谷研二：損傷DNAの複製とPCNAのポリユビキチン化の分子機構．第70回日本癌学会学術総会，名古屋，10/5/2011。（講演要旨集，p.266，2011）
 10. 鈴木元，富田秀太，有馬千夏，増田雄司，神谷研二，長田啓隆，谷田部恭，高橋 隆：肺癌におけるPOLD4の関与．第70回 日本癌学会学術総会，名古屋，10/3/2011。（講演要旨集，p.90，2011）
 11. 笹谷めぐみ，本田浩章，増田雄司，渡邊敦光，神谷研二：Rev1の過剰発現が発がんに及ぼす役割．第70回 日本癌学会学術総会，名古屋，10/5/2011。（講演要旨集，p.267，2011）
 12. 神谷研二：被ばく医療とがん．第49回日本癌治療学会学術集会，名古屋，10/27/2011.
 13. 河合秀彦，曹 麗麗，飯塚大輔，松井啓隆，金井昭教，稲葉俊哉，増田雄司，笹谷めぐみ，神谷研二，鈴木文男： γ 線の照射環境下での細胞応答の線量率依存性の解析．日本放射線影響学会第54回大会，神戸市，11/19/2011。（講演要旨集，p.104，2011）
 14. 笹谷めぐみ，徐 衍賓，本田浩章，濱崎幹也，楠 洋一郎，渡邊敦光，増田雄司，神谷研二：放射線発がんゲノム不安定性．日本放射線影響学会第54回大会，神戸市，11/19/2011。（講演要旨集，p.104，2011）
 15. 神谷研二：低線量放射線の人体影響と生体応答．日本放射線影響学会第54回大会，神戸市，11/19/2011。（講演要旨集，p.53，2011）
 16. 増田雄司，鈴木美紀，神谷研二：放射線によるDNA損傷と複製後修復経路の機能．日本放射線影響学会第54回大会，神戸市，11/17/2011。（講演要旨集，p.75，2011）
- H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）
1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
なし

DNA修復遺伝子の発現異常によるがん特性の解明

研究分担者 宮川 清 東京大学大学院医学系研究科

研究要旨 放射線によって活性化される遺伝子の異常によるがん特性の解析は、放射線障害からみた発がん分子基盤の解明に大きく貢献するものである。このような遺伝子異常の中でも、エピジェネティックな機序によって発現異常をきたしているDNA修復遺伝子の機能異常が、どのようながん特性の原因となるのかを解明することは、新たながんの治療法の開発に極めて大きな影響を与えることが想定されている。これまでの研究によって、がん精巣抗原と呼ばれる分子群の中で、DNA修復機能に影響を及ぼす分子の存在が明らかとなったために、その一つであるSYCP3をモデルとして、がん特性の解析を行っている。SYCP3は正常では生殖細胞における減数分裂においてのみ発現するが、多種類のがんにおいてメチル化の異常によって発現することが既に明らかになっている。このような機序によって生殖細胞以外においてこの分子が発現した場合、DNA二本鎖切断に対する相同組換え修復の機能が低下することによって、ゲノム不安定性が誘導される。その機構としては、SYCP3がこの修復経路において重要な役割を果たすBRCA2に結合して、その機能を阻害することが明らかとなっている。BRCA2の変異は遺伝性乳がん・卵巣がんの原因となるが、その頻度比べてSYCP3のがんにおける異常発現の頻度が高いことから、このようながんの特性の治療への応用性について検討した。相同組換え修復欠損細胞はpoly(ADP-ribose) polymerase(PARP)阻害に対して高い感受性を示すことから、SYCP3発現とPARP阻害剤の感受性の関係を検討した。その結果、BRCA2が変異していない場合にSYCP3が発現すると、PARP阻害剤に対する感受性が亢進することが判明した。この結果は、SYCP3発現による相同組換え修復機能の低下とPARP阻害が、がん細胞特異的に合成致死の表現型をもたらすことを示唆するものである。このように、DNA修復機能を制御する遺伝子の発現異常の解析により、合成致死の概念を基盤とする治療方法の開発が可能となることが期待される。

A. 研究目的

放射線によって活性化される遺伝子の中で、とりわけDNA修復遺伝子は、直接的にDNA損傷の修復に関与するために、その異常は放射線による発がん大きく寄与することが想定されてきた。そのみならず、放射線によらない一般の発がんにおいても内因性のDNA損傷の役割が注目されているために、一部のがんではDNA修復異常が関与しているものと考えられている。

このような仮説に基づいて、これまでに数多くのDNA修復遺伝子の異常の有無について、多様な種類のがんにおいて検討されてきた。その結果、DNA二本鎖切断に対して相同組換えによって修復する分子である

BRCA1とBRCA2については、遺伝性乳がん・卵巣がんの一部において変異することによって機能欠損をきたしていることが明らかとなっている。この結果から、これらの遺伝子の変異以外の機序によって、相同組換え修復機能が低下して、ゲノム不安定性が誘導され発がんに至る事例が存在することが想定された。しかし、このような相同組換え修復に関わる他の遺伝子のがんにおける変異は、極めて少ないことが判明している。

その一方で、次世代シーケンサーの開発によって、がんの網羅的遺伝子解析が容易に行なわれるようになった結果、これまでの想定以上にDNA二本鎖切断が原因とな

る染色体異常の頻度が多いことが報告されるようになった。この事実は、その発がんの背景にはDNA修復遺伝子の変異によらない機能異常によってゲノム不安定性をきたしているがんが多いことを示唆するものである。

このような仮説を証明するために、我々は、これまでに、エピジェネティックな機序によって発現する分子がDNA修復機能に影響を及ぼす可能性を検討してきた。そこで注目したのが、がん精巢抗原と呼ばれている正常では生殖細胞における減数分裂においてのみ発現するほかはがんでのみ発現する分子群のDNA修復への影響である。その理由としては、これらの分子群の一部の分子は、減数分裂の中でも組換え現象に直接的にはたらくことから、DNAのダイナミズムを制御する可能性が想定されたからである。そこで減数分裂における相同組換えに重要な役割を果たすシナプトネマ複合体の構成分子であるSYCP3が、がん精巢抗原としてゲノム不安定性をもたらす可能性を検討してきた。

これまでの研究によって、SYCP3は胃がん、腎がん、副腎がんなどの多様な種類のがんにおいて、低メチル化が原因となって発現することが判明し、がん精巢抗原に分類されることが結論できた。そして、その発現によって、相同組換え修復機能が低下して、放射線やシスプラチンに対する細胞の感受性が亢進するとともに、染色体の異数性が増加することが明らかとなった。その機序としては、相同組換え修復において中心的な役割を果たすRAD51のメディエーターであるBRCA2にSYCP3が結合することによって、その機能を低下させることが考えられている。

BRCA2の変異がんにおいては、相同組換え修復機能が低下していることを利用して、その機能を補完する経路で役割を担う酵素であるPARPを阻害することによって、がん細胞において合成致死をもたらすことが、新たな治療戦略として提唱されている。この概念に基づいて、PARP阻害剤の臨床試験が活発におこなわれて、よい成績が得られつつある。しかし、このような治療が適応となるのはBRCA1やBRCA2の変異を有する症例に限られる。これらの変異によらずにBRCAの機能が低下している状況の存在

が想定されていることから、SYCP3の発現により、このがん特性に相当する状況が誘導される可能性を想定して検討を行った。

B. 研究方法

SYCP3の発現による細胞のPARP阻害剤への感受性の影響を解析するために、SYCP3非発現細胞へ外来性にcDNAを導入した細胞と、SYCP3発現がん細胞においてsiRNAによってその発現を抑制した細胞の両方を用いて検討を行った。前者においては正常網膜上皮細胞(RPE)を、後者においてはHepG2、HT1080、MCF7の各がん細胞株を用いた。

PARP阻害剤としては、NU1025を用いて、最大150 μ Mまでの濃度で、7日から10日間程度培養液に添加した状態で培養した後に、生存率をコロニー計数によって算出した。

これらの実験によって有意な変化が観察された後に、SYCP3の効果がBRCA2の抑制によるものであることを確認するために、SYCP3が発現してかつBRCA2が変異している細胞株であるCapan 1を用いて、siRNAによるノックダウン細胞を作製して同様のコロニー形成によるNU1025に対する感受性の検討を行った。

さらに、既存のDNA損傷性抗がん剤との併用の効果をみるために、RPEにSYCP3を発現した細胞と野生株を用いて、NU1025単独処理の場合と、シスプラチン4 μ Mで1時間処理した後にNU1025を加えた場合の生存率の差異を解析した。

(倫理面への配慮)

樹立された細胞株を購入して行う実験であるために、倫理面への配慮は必要としない。

C. 研究結果

野生型RPE細胞では、NU1025を100 μ M投与しても、コロニー形成能はほとんど変化しないのに対して、SYCP3発現RPE細胞では、20 μ Mで半数程度に減少し、100 μ Mでは全くコロニーが形成されなかった。この結果から、SYCP3発現によって、細胞はPARP阻害剤に対して著しく感受性が亢進することが示唆された。

次に、SYCP3発現がん細胞において、siRNAによってSYCP3をノックダウンしてPARP阻害剤150 μ Mへの感受性の変化を検討した。コロニー形成は、HepG 2では

0.9±0.77%から7.2±2.2%へ、HT1080では4.0±2.5%から17.8±2.7%へ、MCF7では7.0±1.5%から14.0±0.4%へと増加した。これらの結果から、SYCP3の発現が低下することによって、PARP阻害剤への感受性は低下することが示唆された。これは、この前のRPEでのSYCP3発現実験の結果と矛盾しないものである。

次に、SYCP3発現がん細胞ではあるが、BRCA2が変異しているために、元々からPARP阻害剤に対し感受性が高いことが知られているCapan1におけるSYCP3のノックダウンの影響を検討した。その結果、PARP阻害剤への感受性は、ノックダウンによって全く変化しなかった。この結果から、SYCP3発現によるPARP阻害剤感受性の変化は、BRCA2を介していることが確かめられた。

最後に、シスプラチン併用の効果を検討したが、SYCP3が発現したRPEにおいて観察されていたPARP阻害剤への高感受性は、シスプラチンの前処理によって、さらに感受性が亢進した。

D. 考察

SYCP3が発現することによって、PARP感受性が亢進し、その発現が低下することによって感受性が低下することが確認され、SYCP3はPARP感受性を制御していると結論づけられた。その機序としては、SYCP3がBRCA2を抑制しているために、相同組換え修復機能が低下し、それに対してPARP阻害によって一本鎖切断に由来する二本鎖切断が修復できなくなったために、細胞致死を招いたことが考えられる。これには、BRCA2が変異しているCapan1細胞においては、SYCP3発現の影響がみられなかったことが支持するものである。

BRCA1やBRCA2の変異を有するがんにおけるPARP阻害剤の有効性は、合成致死の概念に基づくものである。これは、放射線やDNA損傷性抗がん剤を用いなくても、内因性のDNA損傷が処理できない場合には、細胞は致死に至る現象を利用するものであり、正常細胞には影響をほとんど与えずにがん細胞を特異的に死滅させるために、次世代のがん治療として大いに期待されている。ただし、BRCA1やBRCA2の変異しているがんの頻度は少ないために、その適応症

例は限られている。

今回の実験によって、SYCP3発現細胞は、BRCA2変異細胞と同様の特性を示すことが明らかとなった。すなわち、BRCAが変異していないがんであっても、SYCP3が発現している場合には、PARP阻害剤が有効である可能性を示唆するものである。SYCP3の発現は、BRCAが変異している乳がんや卵巣がんではないがんにおいて観察されていることから、この治療は、臓器別の臨床試験よりも分子マーカーを指標にした臨床試験によって検証される必要があると考えられる。

今後、この新しい分子マーカーを指標にしてPARP阻害剤の適応を拡大するためには、どの程度のレベルでSYCP3が発現していれば臨床的な有効性が認められるのかを検討する必要がある。RPE細胞に外来性にSYCP3を発現させた場合には、PARP阻害剤に著しく高い感受性が観察されたことから、この程度の発現ががん細胞にあれば有効性が期待される。今回検討したがん細胞株の中では、HepG2とHT1080がそれに相当するものと考えられている。このレベルの発現が、細胞株ではなく実際のがん細胞の検体において確認されるかどうか、今後の治療への発展の鍵となるであろう。

その一方で、PARP阻害剤単独よりも、シスプラチンの前処理を併用した場合には、さらに効果が高まることは、SYCP3の発現レベルがそれほど高くない場合には、この併用療法が有効である可能性を示唆するものである。これは、シスプラチンによって形成されるDNA架橋の修復において、相同組換え機構が中心的な役割を果たすこととも関係しているかもしれない。もしそうであれば、オキサリプラチンのようなさらに強力なDNA架橋剤と併用した場合の、PARP阻害剤の効果も期待されるであろう。

E. 結論

がん精巣抗原であるSYCP3が発現することによって、BRCA2の機能が抑制され、DNA二本鎖切断に対する相同組換え修復機能が低下する。その結果、細胞はPARP阻害剤に対して高感受性を示すようになる。これはBRCA変異がんにおけるPARP阻害剤の有効性の基盤となる合成致死の表現型と同じものである。以上の結果から、BRCA

の変異がない場合であっても、SYCP3のようなエピジェネティックな機序によって発現する分子が、DNA修復機能を抑制することがあることが明らかとなった。このような情報に基づいて、合成致死がん治療を推進するために、DNA修復を制御している分子の発現異常をさらに詳しく検討する必要性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Hosoya N, Okajima M, Kinomura A, Fujii Y, Hiyama T, Sun J, Tashiro S and Miyagawa K. Synaptonemal complex protein SYCP3 impairs mitotic recombination by interfering with BRCA2. EMBO Rep 2012 13: 44-51.

Enomoto A, Kido N, Ito M, Takamatsu N and Miyagawa K. Serine-Threonine Kinase 38 is regulated by Glycogen Synthase Kinase-3 and modulates oxidative stress-induced cell death. Free Radical Biol Med 2012 52: 507-515.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

なし

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）
分担研究報告書

放射線関連発がんに関与する遺伝要因の研究

研究分担者 林 奉権 （財）放射線影響研究所 放射線生物学/分子疫学部

研究要旨 過去の疫学研究で原爆放射線による被曝は生存者の結腸がんリスクを上昇させるが直腸がんリスクを上昇させないことが報告されている。この放射線に対する感受性の違いについては明らかにされていない。大腸がんはその発症に環境因子や遺伝因子が関与する多因子疾患である。最近、動物実験により腸内細菌の毒素ががん化を促進すること、またグラム陰性菌菌体壁成分のリポポリサッカライドのレセプターをコードする*CD14*の遺伝子プロモーター領域の1塩基置換多型が*CD14*の発現を変化させ、炎症性疾患感受性の個人差に影響することが報告されている。

本年度は、放射線影響研究所の成人健康調査コホート内の1982年以降に大腸がん罹患した194症例および2,132名のサブコホートからなるケース・コホート研究により、*CD14*のプロモーター領域-911位の遺伝子多型（*CD14-C/A*）と大腸発がんとの関係、および、それらの関係に対する放射線被曝の影響について調べた。その結果、放射線によるリスクの増加は、結腸がんでは有意であったが（RR=1.17/Gy、95%CI: 1.02-1.34）、直腸がんでは有意でなかった。対象者を被曝線量によって3群に分け、*CD14*遺伝子型別にリスクを算出したところ、基準カテゴリー（*CD14-C/C*または*-C/A*で非被曝）と比べて*CD14-A*アレルのホモ接合体と最も高い被曝線量（>0.7Gy）の組み合わせカテゴリーで結腸発がんリスクが有意に増加していた（RR=2.16、95%CI: 1.25-3.72）。これらの結果は、*CD14*に関連した炎症応答が原爆被曝者の直腸がんではなく放射線関連結腸がんの発生に関与し、また、*CD14*遺伝子型が放射線量に伴う結腸がんの個人のリスクに関与している可能性を示唆している。

A. 研究目的

本研究の目的は、原爆被曝者集団を対象としたコホート研究のゲノム解析により、放射線関連発がんの遺伝的高危険群を同定するとともに、放射線影響と遺伝要因の相互作用に基づく発がんリスクの評価システムを構築することである。放射線被曝が持続性炎症を亢進するという免疫学の知見を踏まえて、免疫関連遺伝子の多型に基づく発がんリスクが放射線被曝によってどのように修飾されるか検討する。炎症から発がんに至る作用機序の解析を行う。本研究の成果は、

原爆放射線への被曝のみならず、他の放射線への被曝に関連した発がんの予防に重要な知見を与えると期待される。

本年度は細菌などの感染からの炎症誘導に関連する炎症指標に注目し、自然免疫で重要な役割を果たしている遺伝子多型に基づき、結腸直腸発がんのリスクに及ぼす個人の遺伝的感受性と放射線被曝の影響を調べた。

B. 研究方法

放射線影響研究所の成人健康調査コホートに基づき、1982年以降に結腸直腸がん罹患

患した194人を症例群（結腸がん153、直腸がん47で6症例は結腸と直腸同時性がん）とし、同コホートから2,132人のサブコホート群を選んでケース・コホート研究を行った。被曝線量別の解析では、非被曝、および被曝線量の中央値700 mGyにより2分割されたグループの計3被曝線量カテゴリーに分けて解析した。免疫関連遺伝子のうち、自然免疫として細菌などの感染からの炎症誘導に重要な役割を果たしているCD14の遺伝子発現との関連が考えられている上流領域の遺伝子多型を調べ、CD14の発現量に関連のあるCD14の-911位の遺伝子多型について結腸直腸発がんリスクとの関係を調べた。SNP解析は、TaqMan 5' ヌクレアーゼ法(PE Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)及びABI Prism 9700HT sequence detector (PE Applied Biosystems)を用いた。SNPに基づく連鎖不平衡解析はSNPAlyzeを用い、症例対照研究におけるリスク評価はSPSSのロジスティック回帰モデルを用いた。

（倫理面への配慮）

本研究は、国の疫学研究のガイドライン、ゲノム・遺伝子研究のガイドラインを遵守している。また、本研究に用いる血液試料は、医学研究およびヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する同意文書に基づいて収集したものである。また、その使用は放影研の人権擁護委員会および遺伝子研究に関する倫理委員の承認を得ている。

C. 研究結果

放射線影響研究所成人健康調査コホートで見いだされた結腸がんおよび直腸がんについて、市別、性別、年齢、喫煙状況、被曝線量とCD14遺伝子型を因子として発がん相対リスク(RR)を調べた。その結果、結腸がんについて有意の関係が認められた因子は、性別で男性のリスクが女性より高い、年齢10才当たりリスクが

1.3倍、原爆放射線被曝線量 1 Gy 当たりリスクが 1.2 倍、そしてCD14遺伝子型ではCD14-A/AのリスクがCD14-C/CあるいはCD14-C/Aより1.4倍高かった。一方、直腸がんではこれらは有意のリスク要因ではなかった。

次に、対象者を被曝線量3カテゴリー（非被曝、0.7 Gy未満の被曝、0.7 Gy以上の被曝）とCD14遺伝子型の2カテゴリー（CD14-A/AとCD14-C/CあるいはCD14-C/Aとの組み合わせ）に分けると、参照カテゴリー（CD14-C/CあるいはCD14-C/Aで非被曝）に比べ、CD14-A/Aを持つ集団の中で最も高い被曝線量カテゴリー（0.7Gy以上）の組み合わせで結腸がんリスクが最大となった（RR = 2.2、95% CI: 1.3-3.7）（図1）。

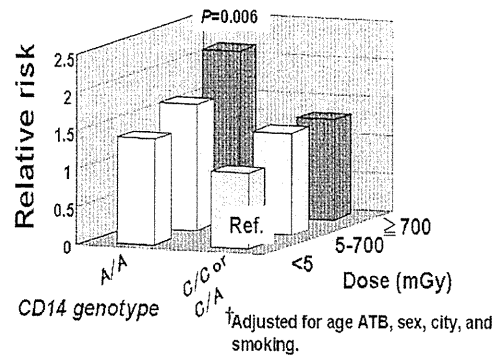


図1 結腸がんリスクに及ぼすCD14遺伝子型と放射線被曝の影響

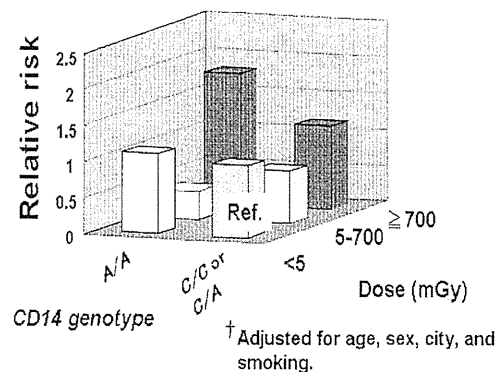


図2 直腸がんリスクに及ぼすCD14遺伝子型と放射線被曝の影響

一方、直腸がんでは放射線被曝によるリスク

の増加、あるいは遺伝子・放射線相互作用はどの遺伝子型でも見いだされなかった(図2)。以上の結果は、原爆被爆者における結腸がんのリスク増加にはCD14を含む炎症因子が線量依存的に関与しているが、直腸がんにはこの炎症因子は関与していないことを示唆している。

D. 考察

今回得られたCD14遺伝子型と結腸発がんとの関係についての研究結果からCD14遺伝子型に関連した免疫炎症応答が原爆被爆者の直腸発がんには関与しないが、結腸がんの発生に関与すること、また、CD14遺伝子型によって放射線への応答が個人によって異なる可能性が示唆される。CD14遺伝子型によって単球・マクロファージ上のLPS受容体として作用するCD14蛋白は膜型CD14及び可溶性CD14が存在し、大腸菌などの抗原存在下でCD14にLPSが結合することにより、CD14に親和性の強いTLR4が活性化されTNF- α 、インターフェロン γ などが誘導されることが知られている。また、腸上皮細胞や活性マクロファージがCD14を産生していることから、CD14が腸管免疫の主要なregulatorである可能性が考えられる。これまでに、CD14遺伝子型がCD14の発現を変化させることが報告されていることから、このCD14遺伝子型に関連するCD14の産生蛋白量の個人差が、自然免疫応答の個人差、および炎症誘導の個人差にも関連する可能性が考えられる。今後、さらにCD14に関連する炎症因子、T細胞免疫、NK細胞活性に関連した遺伝子多型についても検討する予定である。これにより、放射線関連大腸がんの高危険群を同定するだけでなく、発がんにおける炎症の役割と作用機序がより明確になると期待される。

E. 結論

我々はこれまでに被爆者の結腸発がん被曝放射線とともにIL18遺伝子多型が関与する

ことを報告した。今回のCD14遺伝子型と結腸発がんとの関係についての研究結果と併せると、1)原爆被爆者の結腸発がんに関与する遺伝的要因と原爆放射線被曝が関与する、2)IL-18およびCD14はいずれも自然免疫と炎症に関連する蛋白であり、持続性炎症がこれらのがんの発生に関与する可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Grant EJ, Neriishi K, Cologne JB, Eguchi H, Hayashi T, Geyer SM, Izumi S, Nishi N, Land CE, Stevens RG, Sharp GB, Nakachi K. Associations of ionizing radiation and breast cancer-related serum hormone and growth factor levels in cancer-free female a-bomb survivors. *Radiat Res*, 176:678-87, 2011.

Yoshida K, Ohishi W, Nakashima E, Fujiwara S, Akahoshi M, Kasagi F, Chayama K, Hakoda M, Kyoizumi S, Nakachi K, Hayashi T, Kusunoki Y. Lymphocyte subset characterization associated with persistent hepatitis C virus infection and subsequent progression of liver fibrosis. *Hum Immunol*, 72:821-6, 2011.

2. 学会発表

Ohishi W, Yoshida K, Kusunoki Y, Nakashima E, Fujiwara S, Hayashi T, Nakachi K, Chayama K, Immunological features associated with disease progression in persistent hepatitis C virus infection. 62nd Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. 4-8 April 2011, San Francisco, California, USA.

大石和佳、吉田健吾、楠 洋一郎、中島 栄二、藤原佐枝子、林 奉権、中地 敬、茶山一彰、慢性C型肝炎ウイルス感染の肝病態進行に関する免疫的特徴の検討。第15回 日本肝臓学会大会 2011年10月20-23日 福岡

Cologne JB、Langholz BM、今井一枝、三角宗近、吉田健吾、林 奉権、中地 敬、放影研の「がん発症と免疫関連遺伝子との関係」研究プロジェクトにおけるケース・コホート・データの多相解析. 2011年度日本計量生物学会年会 2011年6月2-3日 大阪

林 奉権、楠 洋一郎、中地 敬、原爆被爆者に見られた免疫遺伝学的発がん感受性への放射線影響.第70回 日本癌学会学術総会 2011年10月3-5日 名古屋

今井一枝、中地 敬、林 奉権、楠 洋一郎、がんリスク関連 NKG2D パプロタイプはNKおよびCD8T細胞上のNKG2Dタンパク発現に関係している.第70回 日本癌学会学術総会 2011年10月3-5日 名古屋

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

放射線による遺伝子障害感受性の個体差に基づく 発がんメカニズムの研究

研究分担者 (財)放射線影響研究所 放射線生物学/分子疫学部 楠 洋一郎

研究要旨 本分担研究は、放射線被ばくによる遺伝子障害感受性と発がんの関連性を検討する目的で、DNA 修復関連遺伝子多型に基づく分子疫学的解析、ならびに放射線による遺伝子障害の試験管内評価システムを用いた実験的解析を進めている。今年度は、後者の実験的アプローチとして、健康成人ボランティアの末梢血における自然発生および放射線誘発 γ H2AX フォーカス頻度の解析を行った。末梢血 CD34 陽性造血幹細胞における自然発生 γ H2AX フォーカス頻度は末梢血リンパ球のそれに比べて有意に低かった。また、統計学的有意差は認められないものの、X 線照射で誘発されるフォーカスの頻度は幹細胞においてより低い傾向がみられた。これらの結果から、末梢血造血幹細胞はリンパ球に比べて高い DNA 修復能を有していることが示唆される。

A. 研究目的

原爆被爆者の赤血球グリコフォリン A (GPA) 遺伝子座の突然変異頻度は被ばく線量の増加に伴って上昇するが、その線量効果には大きな個人差があり、がんを発生した被爆者グループの線量効果の勾配はがんを発生しなかったグループに比べて高い。このことから、放射線による遺伝子障害の程度には個人差が存在し、より高い放射線感受性を有する者は放射線関連がんのリスクがより高くなると考えられる。この仮説をより強固なものにするため、GPA 突然変異頻度と DNA 修復関連遺伝子多型の分子疫学的解析、ならびに放射線による遺伝子障害の試験管内評価システムを用いた実験的解析により、放射線感受性の個体差に関わる生物学的機序の解明を進めている。これまで、前者の分子疫学的解析では、*P53BP1* ならびに *cyclin D1* の多型が関連すること、後者の実験的解析では γ H2AX 測定系が放射線感受性評価に有用であることを報告してきた。今年度は、GPA 突然変異の標的である造血幹細胞における遺伝子障害の評価を目的として、 γ H2AX 測定系を改良し、健康成人ボランティアの末梢血における自然発生および放射線誘発 γ H2AX フォーカス頻度の解析を行った。

B. 研究方法

研究所職員ボランティア（健康成人）より同意文書に基づいて収集した末梢血より、Ficoll 法を用いて単核細胞を分離し実験に使用した。末梢血単核細胞 2×10^6 個を X 線照射後あるいは非照射で CD34 抗体および細胞系列 (CD3, CD14, CD16, CD19, CD20, CD56, および GPA) 抗体にて細胞表面を染色後、細胞固定ならびに透過処置を施して細胞内 γ H2AX 免疫蛍光染色を行った。染色した単核細胞は、セルソーター (FACS Aria II) にて CD34 陽性で細胞系列陰性の造血幹細胞分画および散乱光で識別したリンパ球分画に識別し、それぞれの細胞分画について150~400細胞をスライドグラス上に分取した。細胞核中の γ H2AX フォーカスをキーエンス・オールインワン顕微鏡下で少なくとも100個以上の細胞について計測し、細胞1個あたりの γ H2AX フォーカス数を比較した。

(倫理面への配慮)

本研究は、国の疫学研究のガイドライン、ゲノム・遺伝子研究のガイドラインを遵守している。また、本研究に用いる血液試料は、医学研究およびヒトゲノム・遺伝子解析に関する同意文書に基づいて収集したものである。また、その使用は放影研の

人権擁護委員会および遺伝子研究に関する倫理委員の承認を得ている。

C. 研究結果

試験管内 X 線照射前の末梢血 CD34 陽性造血幹細胞における γ H2AX フォーカス形成を蛍光顕微鏡下で観察した例を図1に示す。自然発生の γ H2AX フォーカス頻度を健康成人10名の造血幹細胞とリンパ球で比較検討した (図2)。その結果、末梢血造血幹細胞における自然発生 γ H2AX フォーカス頻度は、同一人の末梢血リンパ球におけるそれに比べて有意に低かった ($P = 0.037$)。

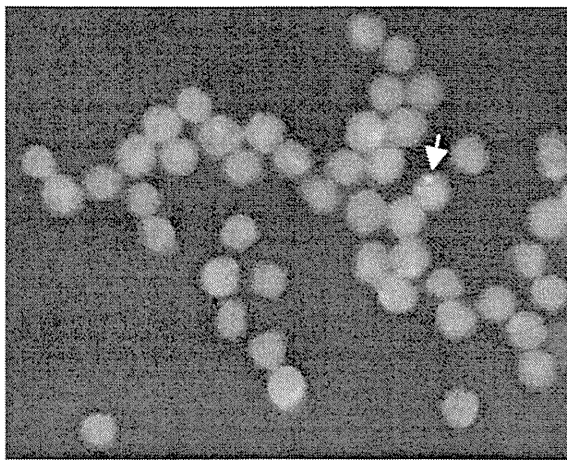


図1. 健康成人由来末梢血CD34 陽性造血幹細胞における自然発生 γ H2AX フォーカス (矢印)

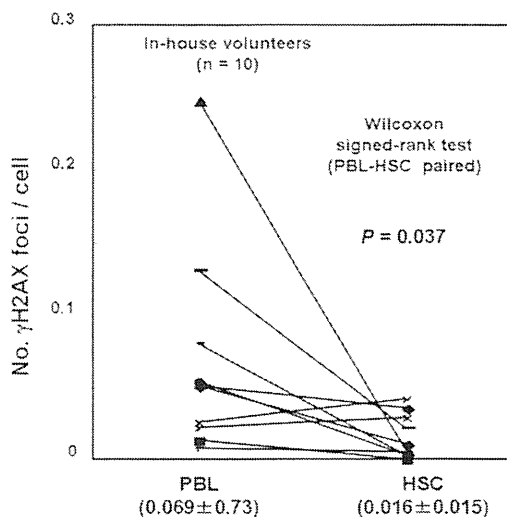


図2. 末梢血リンパ球 (PBL) および造血幹細胞 (HSC) における自然発生 γ H2AX フォーカス頻度。実線は同一人の値を結んでいる。

X 線照射1時間後の γ H2AX フォーカス

頻度は造血幹細胞とリンパ球のいずれにおいても照射線量依存性 (0.1-2.0 Gy) に増加した(図3)。また、おそらくサンプル数が少ないため統計学的有意差は認められないものの、X 線照射で誘発されるフォーカスの頻度は幹細胞においてより低い傾向がみられた。

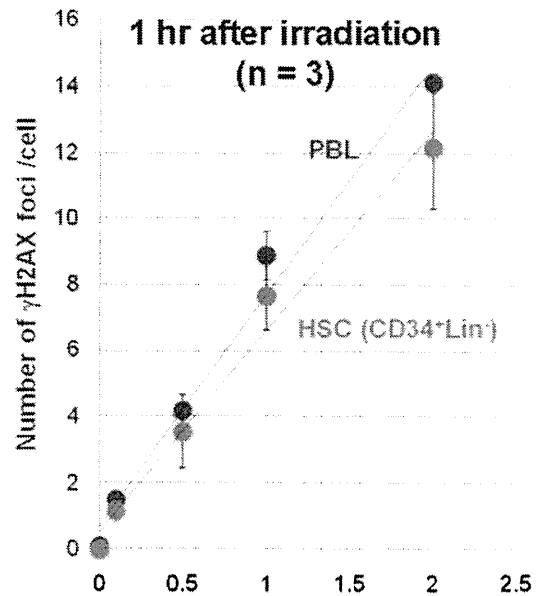


図3. 末梢血リンパ球および造血幹細胞における試験管内 X 線照射1時間後の γ H2AX フォーカス頻度。プロットは3名の健康成人の値の平均値と標準偏差を表す。

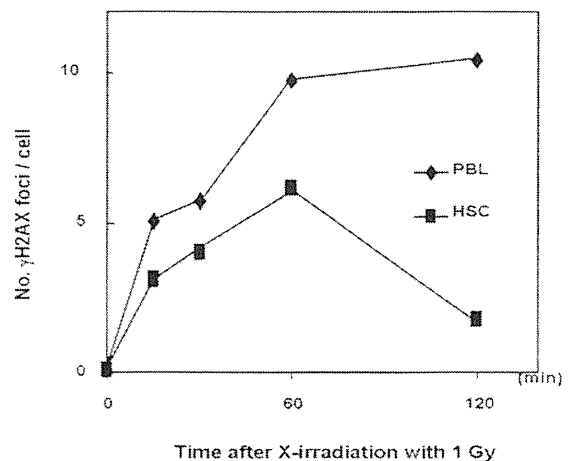


図4. 試験管内 1.0 Gy X 線照射後の末梢血リンパ球および造血幹細胞における γ H2AX フォーカス頻度。

健康成人2名の末梢血を用いて、放射線誘

発 γ H2AX フォーカスのタイムコースを調べた。図4に実験結果の1例を示すが、いずれの末梢血においても1.0 Gy X 線照射後のフォーカス頻度は造血幹細胞の方がリンパ球に比べ早く低下する傾向が見られた。

D. 考察

放射線感受性の個体差に関わる生物学的機序を探るための試験管内実験系を開発する目的で、ヒト末梢血中の CD34 陽性造血幹細胞における γ H2AX フォーカス測定系を確立した。造血幹細胞における自然発生 γ H2AX フォーカス頻度はリンパ球に比べて有意に低く、X 線照射後のフォーカスの頻度も幹細胞においてより低い傾向がみられた。これらの結果から、造血幹細胞は末梢血リンパ球に比べて高い DNA 修復能を有していることが示唆される。幹細胞は自己再生と分化により長期にわたって子孫細胞を産生し続ける。造血幹細胞の高い DNA 修復能は、生体における造血系腫瘍発生のリスク軽減に働いているのかもしれない。

造血幹細胞は骨髄に多く存在し、末梢血中には極めて微量である。したがって、ヒトからの採取に侵襲性の少ない末梢血を用いる測定系では、造血幹細胞を効率的に回収して信頼性のあるデータを得る必要がある。今回確立した測定系は、末梢血単核細胞 2×10^6 個から造血幹細胞を90%以上の回収率で分取し、少なくとも100個以上の細胞について γ H2AX フォーカスを計測している。そのため、有力な発がんターゲットと考えられている幹細胞の放射線障害感受性を、容易に採取できる少量の血液を用いて評価することができる。また、 γ H2AX フォーカスと他の DNA 修復関連タンパクとの共局在を調べることにより、DNA 修復の分子機序を調べる実験に応用可能と思われる。さらに、試験管内放射線誘発 γ H2AX フォーカス頻度と発がんリスクの関係を調べることにより、放射線障害に高感受性を有する者は放射線関連がんのリスクがより高くなるという仮説の検討が可能であると考えられる。

E. 結論

ヒト末梢血 CD34 陽性造血幹細胞における自然発生ならびに放射線誘発 γ H2AX フォーカス頻度測定系を確立した。健康成

人の末梢血を用いた実験から、造血幹細胞はリンパ球に比べて自然発生および放射線誘発 DNA 二重差切断の頻度が低く、より高い DNA 修復能を有していることが示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Yoshida K, Ohishi W, Nakashima E, Fujiwara S, Akahoshi M, Kasagi F, Chayama K, Hakoda M, Kyoizumi S, Nakachi K, Hayashi T, Kusunoki Y. Lymphocyte subset characterization associated with persistent hepatitis C virus infection and subsequent progression of liver fibrosis. *Hum Immunol*, 2011; 72(10):821-6.

Noda A, Hirai Y, Kodama Y, Kretzschmar WW, Hamasaki K, Kusunoki Y, Mitani H, Cullings HM, Nakamura N. Easy detection of GFP-positive mutants following forward mutations at specific gene locus in cultured human cells. *Mutat Res-Gen tox En*, 2011; 721(1):101-7.

2. 学会発表

Ito R, Eguchi H, Hamatani K, Taga M, Oue N, Yasui W, Nakachi K, Kusunoki Y. Genetic and epigenetic alterations in colorectal cancer among atomic-bomb survivors. The 2nd AACR International Conference on Frontiers in Basic Cancer Research, 2011/9/14-18, San Francisco, California, USA.

Douple EB, Fujiwara S, Kusunoki Y, Grant EJ, Kodama Y, Takahashi N, Katayama H, Suyama A, Shore RE. The use of unique archived data and biological samples by the Radiation Effects Research Foundation. 14th International Congress of Radiation Research, 2011/8/28-9/1, Warsaw, Poland

伊藤玲子、江口英孝、濱谷清裕、多賀正尊、高橋恵子、大上直秀、安井 弥、中地敬、楠 洋一郎. 原爆被爆者の大腸癌における CIMP 解析. 第100回 日本病理学会総会 2011/4/28-30 横浜

濱谷清裕、高橋恵子、伊藤玲子、多賀正尊、丹羽保晴、中地 敬、楠 洋一郎. 原爆被爆者に発生した再配列 *ALK* 遺伝子を有する成人甲状腺乳頭癌の特徴. 第70回 日本癌学会学術総会 2011/10/3-5 名古屋

楠 洋一郎. 放射線関連非がん関連疾患
に免疫学的変化が関わる可能性. 第54回
日本放射線影響学会 2011/11/17-19 神戸

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定
を含む）

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

研究成果の刊行に関する一覧表レイアウト

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の 編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
Yasui W, Oue N and Sentani K	Molecular diagnostics of esophageal and gastric cancer.	Dongfeng Tan	Principle of m olecular diagn ostics and per sonalized can cer therapy	Lippincott Williams & Wilkins	Philadelp hia	2012	In press
Taniyama K, Morii N, Kuraoka K, Saito A, Nishimura T, Sakane J, Harada M, Tanaka M, Takahashi H, Miyamoto K and Hironori K	Topoisomerase II - alpha index predicts the efficacy of anthracycline-based chemotherapy for breast cancers	Sophie I. Williams	HER2 and Cancer	Nova Science Publishers	New York	2011	187-200

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Yasui W, Sentani K, Sakamoto N, Anami K and Oue N	Molecular pathology of gastric cancer: Research and practice	Path Res Pract	207	608-612	2011
Hayashi T, Sentani K, Oue N, Anami K, Sakamoto N, Ohara S, Teishima J, Noguchi T, Nakayama H, Taniyama, Matsubara A and Yasui W	Desmocollin 2 is a new immunohistochemical marker indicative of squamous cell carcinoma differentiation in urothelial carcinoma	Histopathology	59	710-721	2011
Hayashi T, Oue N, Sakamoto N, Anami K, Oo HZ, Sentani K, Ohara S, Teishima J, Matsubara A and Yasui W	Identification of transmembrane protein in prostate cancer by the Escherichia coli ampicillin secretion trap: Expression of CDON is involved in tumor cell growth and invasion	Pathobiology	78	277-284	2011
Yasui W	Future Perspective of Gastric Cancer Treatment -From Bench to Bedside-	Pathobiology	78	293-294	2011

Oue N, Noguchi T, Anami K, Sentani K, Sakamoto N, Uraoka N, Wakamatsu Y, Sasaki H and Yasui W	Serum concentration and expression of Reg IV in patients with esophageal cancer: age-related elevation of serum Reg IV concentration	Oncol Lett	2	235-239	2011
Sumida T, Kitadai Y, Shinagawa K, Tanaka M, Kodama M, Ohnishi M, Ohara E, Tanaka S, Yasui W and Chayama K	Anti-stromal therapy with imatinib inhibits growth and metastasis of gastric carcinoma in an orthotopic mouse model	Int J Cancer	128	2050-2062	2011
Saeki N, Saito A, Choi IJ, Matsuo K, Ohnami S, Totsuka H, Chiku S, Kuchiba A, Lee YS, Yoon KA, Kook MC, Park SR, Kim YW, Tanaka H, Tajima K, Hirose H, Tanioka F, Matsuno Y, Sugimura H, Kato S, Nakamura T, Nishina T, Yasui W, Aoyagi K, Sasaki H, Yanagihara K, Katai H, Shimoda T, Yoshida T, Nakamura Y, Hirohashi S and Sakamoto H	A functional single nucleotide polymorphism in MUC1, at chromosome 1q22, determines susceptibility to diffuse-type gastric cancer Short title: MUC1 is a gastric cancer susceptibility gene	Gastroenterology	140	892-902	2011
Takami H, Sentani K, Matsuda M, Oue N, Sakamoto N and Yasui W	Cytokeratin expression profiling in gastric carcinoma: clinicopathologic significance and comparison with tumor-associated molecules	Pathobiology	79	154-161	2012
Wakamatsu Y, Sakamoto N, Oo HZ, Naito Y, Uraoka N, Anami K, Sentani K, Oue N and Yasui W	Expression of cancer stem cell markers ALDH1, CD44 and CD133 in primary tumor and lymph node metastasis of gastric cancer	Pathol Int	62	112-119	2012

Hayashi D, Tamura A, Tanaka H, Yamazaki Y, Watanabe S, Suzuki K, Suzuki K, Sentani K, <u>Yasui W</u> , Rakugi H, Isaka Y and Tsukita S	Deficiency of claudin-18 causes paracellular H ⁺ leakage, up-regulation of interleukin-1beta, and atrophic gastritis in mice	Gastroenterology	142	292-304	2012
Nakayama H, Enzan H and <u>Yasui W</u>	Expression of podoplanin/D2-40 in pericryptal stromal cells in superficial colorectal epithelial neoplasia	Med Mol Morphol	In press		2012
Oue N, Noguchi T, Anami K, Kitano S, Sakamoto N, Sentani K, Uraoka N, Aoyagi K, Yoshida T, Sasaki H and <u>Yasui W</u>	Cytokeratin 7 is a predictive marker for survival and effect of adjuvant chemotherapy in patients with esophageal squamous cell carcinoma	Ann Surg Oncol	In press		2012
Ohara E, Kitadai Y, Onoyama M, Ohnishi M, Shinagawa K, Oka S, Yoshida S, Tanaka S, Sakamoto N, <u>Yasui W</u> , Shimamoto F and Chayama K	Regression of rectal MALT lymphoma after antibiotic treatment in a patient negative for Helicobacter pylori	Clin J Gastroenterol	In press		2012
Gersemann M, Becker S, Nuding S, Antoni L, Ott G, Fritz P, Oue N, <u>Yasui W</u> , Wehkamp J and Stange EF	Olfactomedin-4 is a glycoprotein secreted into mucus in active IBD (inflammatory bowel diseases)	J Crohns Colitis	In press		2012
Sentani K, Oue N, Naito Y, Sakamoto N, Anami K, Oo HZ, Uraoka N, Aoyagi K, Sasaki H and <u>Yasui W</u>	Upregulation of HOXA10 in gastric cancer with the intestinal mucin phenotype: Reduction during tumor progression and favorable prognosis	Carcinogenesis	In press		2012
Sakao Y, Okumura S, Mun M-y, Uehara H, <u>Ishikawa Y</u> and Nakagawa K	The impact of superior mediastinal lymph node metastases on prognosis in non-small cell lung cancer located in the right middle lobe	J Thorac Oncol	6	494-499	2011
Takeuchi K, Soda M, Togashi Y, Sugawara E, Hatano S, Asaka R, Okumura S, Nakagawa K, Mano H and <u>Ishikawa Y</u>	Pulmonary inflammatory myofibroblastic tumor expressing a novel fusion, PPFIBP1-ALK: reappraisal of anti-ALK immunohistochemistry as a tool for novel ALK-fusion identification	Clin Cancer Res	17	3341-3348	2011

<p>Kudo K, Ohyanagi F, Horiike A, Miyauchi E, Yanagitani N, Hoshi R, Satoh Y, Motoi N, Hamanaka W, <u>Ishikawa Y</u>, Mun M, Sakao Y, Okumura S, Nakagawa K, Horai T and Nishio M</p>	<p>Clinicopathological findings of non-small-cell lung cancer with high serum progastrin-releasing peptide concentrations</p>	<p>Lung Cancer</p>	<p>74</p>	<p>401-404</p>	<p>2011</p>
<p>Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, Nicholson AG, Geisinger KR, Yatabe Y, Beer DG, Powell CA, Riely GJ, Van Schil PE, Garg K, Austin JH, Asamura H, Rusch VW, Hirsch FR, Scagliotti G, Mitsudomi T, Huber RM, <u>Ishikawa Y</u>, Jett J, Sanchez-Cespedes M, Sculier JP, Takahashi T, Tsuboi M, Vansteenkiste J, Wistuba I, Yang PC, Aberle D, Brambilla C, Flieder D, Franklin W, Gazdar A, Gould M, Hasleton P, Henderson D, Johnson B, Johnson D, Kerr K, Kuriyama K, Lee JS, Miller VA, Petersen I, Roggli V, Rosell R, Saijo N, Thunnissen E, Tsao M and Yankelewitz D</p>	<p>International association for the study of lung cancer/american thoracic society/european respiratory society international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma</p>	<p>J Thorac Oncol</p>	<p>6</p>	<p>244-285</p>	<p>2011</p>

Tsuji K, <u>Ishikawa Y</u> and Imamura T	Technique for differentiating alveolar soft part sarcoma from other tumors in paraffin-embedded tissue: comparison of immunohistochemistry for TFE3 and CD147 and of reverse transcription polymerase chain reaction for ASPSCR1-TFE3 fusion transcript	Hum Pathol	In press		2012
Kabeya M, Furuta R, Kawabata K, Takahashi S and <u>Ishikawa Y</u>	Prevalence of human papillomavirus in mobile tongue cancer with particular reference to young patients	Cancer Sci	In press		2012
Inamura K, Fujiwara M, Togashi Y, Nomura K, Mukai H, Fujii Y, Yamamoto S, Yonese J, Fukui I and <u>Ishikawa Y</u>	Diverse fusion patterns and heterogeneous clinicopathologic features of renal cell carcinoma with t(6;11) translocation	Am J Surg Pathol	In press		2012
Fujiwara T, Hiramatsu M, Isagawa T, Ninomiya H, Inamura K, Ishikawa S, Ushijima M, Matsuura M, Jones HM, Shimane M, Nomura H, <u>Ishikawa Y</u> and Aburatani Y	ASCL1-coexpression profiling but not single gene expression profiling defines lung adenocarcinomas of neuroendocrine nature with poor prognosis	Lung Cancer	In press		2012
Takabatake M, <u>Daino K</u> , Imaoka T, Nishimura M, Morioka T, Fukushi M and Shimada Y	Aberrant expression and phosphorylation of 4E-BP1, a main target of mTOR signaling, in rat mammary carcinomas: an association with etiology	In Vivo	25	853-860	2011
Nawata H, Kashino G, Tano K, <u>Daino K</u> , Shimada Y, Kugoh H, Oshimura M and Watanabe M	Dysregulation of gene expression in the artificial human trisomy cells of chromosome 8 associated with transformed cell phenotypes	PLoS One	6	e25319	2011
de Groote FH, Jansen JG, Masuda Y, Shah DM, <u>Kamiya K</u> , de Wind N and Siegal G	The Rev1 translesion synthesis polymerase has multiple distinct DNA binding modes	DNA Repair (Amst)	10	915-925	2011

Toyoshima M, Honda H, Watanabe H, Masuda Y and <u>Kamiya K</u>	Development of a sensitive assay system for tritium risk assessment using Rev1 transgenic mouse	Fusion Science and Technology	60	1204-1208	2011
Masuda Y, Suzuki M, Kawai H, Suzuki F and <u>Kamiya K</u>	Asymmetric nature of two subunits of RAD18, a RING-type ubiquitin ligase E3, in the human RAD6A-RAD18 ternary complex	Nucleic Acids Res	40	1065-1076	2012
Masuda Y and <u>Kamiya K</u>	Molecular nature of radiation injury and DNA repair disorders associated with radiosensitivit	Int J Hematol	95	239-45	2012
Hosoya N, Okajima M, Kinomura A, Fujii Y, Hiyama T, Sun J, Tashiro S and <u>Miyagawa K</u>	Synaptonemal complex protein SYCP3 impairs mitotic recombination by interfering with BRCA2	EMBO Rep	13	44-51	2012
Enomoto A, Kido N, Ito M, Takamatsu N and <u>Miyagawa K</u>	Serine-Threonine Kinase 38 is regulated by Glycogen Synthase Kinase-3 and modulates oxidative stress-induced cell death	Free Radical Biol Med	52	507-515	2012
Grant EJ, Neriishi K, Cologne J, Eguchi H, <u>Hayashi T</u> , Geyer S, Izumi S, Nishi N, Land C, Stevens RG, Sharp GB and Nakachi K	Associations of ionizing radiation and breast cancer-related serum hormone and growth factor levels in cancer-free female a-bomb survivors	Radiat Res	176	678-687	2011
Yoshida K, Ohishi W, Nakashima E, Fujiwara S, Akahoshi M, Kasagi F, Chayama K, Hakoda M, Kyoizumi S, Nakachi K, Hayashi T and <u>Kusunoki Y</u>	Lymphocyte subset characterization associated with persistent hepatitis C virus infection and subsequent progression of liver fibrosis.	Hum Immunol	72	821-826	2011
Noda A, Hirai Y, Kodama Y, Kretzschmar WW, Hamasaki K, <u>Kusunoki Y</u> , Mitani H, Cullings HM and Nakamura N	Easy detection of GFP-positive mutants following forward mutations at specific gene locus in cultured human cells	Mutat Res	721	101-107	2011