ミニレビュー

DNA 依存性プロテインキナーゼと細胞の放射線感受性との関係†

遠藤大二
(酪農学園大学)

Key Words : X-ray, radiation therapy, DNA repair, DNA-PK, Ku protein

DNA依存性蛋白質キナーゼ (DNA dependent protein kinase, DNA-PK) は、セリンスレオニンキナーゼで、DNAの二重鎖切断 (DSB) を修復する際に、DNA断端に結合してDNA修復の開始に関与する¹⁾。このDNA-PKは、酵素活性を担うサブフラグメント (DNA-PKcs) とDNAの断端に結合するサブフラグメント (Ku蛋白質) から構成される。Ku蛋白質は、始め polymyositis-scleroderma 患者の免疫抗原として報告され²⁾、後に69 kDa (Ku70蛋白質) と83 kDa (Ku80蛋白質) のヘテロダイマーから構成されていることが示された³⁾。

一方、DNA-PKcsは脂質キナーゼ phosphatidylinositol 3-kinase のホモログであるが、DNAの断端にKu蛋白質の存在下で結合して活性化される蛋白質キナーゼとして報告された¹⁾。高い放射線感受性を示すDNA-PKcs, Ku70 または Ku80 の欠損細胞の解析から、DNA-PKは相同染色体の組換えを伴わずDNA断端を再結合させる非相同性組換え修復に関与することが示された⁴⁾。哺乳動物のDSB修復機序として、非相同組換え修復が大きな割合を占めることが1985年から知られていた⁵⁾、DNA-PKのDNA修復における重要性が理解されるようになった。

放射線治療で腫瘍細胞の放射線感受性を予測することは、治療効果を高める上で大きな意味がある。しかしながら、腫瘍ごとに放射線感受性が異なり、感受性の予測は容易ではない⁶⁾。試験管内で培養した腫瘍細胞に放射線を当ててその生残率から放射線感受性を予測することは可能であるが、実用性および迅速性という観点から問題がある。DNA-PKに関しては、DNA修復における重要性が証明されていることと、感度よく活性を定量できることなどから腫瘍ごとの放射線感受性を推定するための指標として期待された⁷⁾。

腫瘍細胞の放射線感受性とDNA-PK活性との関係については、Allalunis-Turnerら⁸⁾が、ヒト glyoma 由来の細胞株を用いて最初の報告をしている。彼らは、9種のglyoma由来細胞株について放射線照射後の生残率とDNA-PK活性の相関の有無を調べたが、二つの指標の間に相関は認められなかった。

正常細胞については、Kastenら⁹⁾が、11種の線維芽細胞でDNA-PK活性と放射線感受性が相関しないことを報告している。Carlo-magnoら¹⁰⁾も10種の線維芽細胞株でDNA-PK活性またはDNA-PKcs, Ku70およびKu80の発現量を定量し、これらの指標が放射線感受性とは相関しないことを示した。彼らは、ヒト細胞にはDNA-PKのサブフラグメント蛋白質が十分量存在しているので、細胞間で見られる多少の差は放射線感受性には影響しないのではないかと考察している。

1999年以降には、DNA-PKの量または活性が腫瘍細胞の放射線感受性と相関するという報告が複数出されている。Sirzenら¹¹⁾は、5種の肺がん細胞株でDNA-PKの活性と放射線感受性が相関することを示し、Bjork-Erikssonら¹²⁾も、64種の頸頭部癌細胞について同様の相関を報告している。また、Wilsonら¹³⁾は、Ku蛋白質の発現量に注目し、53例の頸部癌について放射線感受性とKu蛋白質の発現量が相関することを示した。

† DNA-dependent Protein Kinase Is Involved in Determination of Radiosensitivity of Cells. Daiji ENDOH : Department of Veterinary Radiology, School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University.

これらの観察では、放射線感受性は一定線量後の生残率 (SF2: 2 Gy 照射後の生残率または SF3.5: 3.5 Gy照射後の生残率) として定量されている。しかしながら、哺乳動物細胞の線量-生残率曲線は、低線量で生残率が高く保たれる領域 (生残曲線の肩) と生残率の対数が線量に比例して減少する領域 (生残曲線の直線領域) から構成され、それぞれ肩の大きさを示す線量 (D_q) と直線部の傾き (D_0) を指標として表される。これらの指標は、細胞の種類や放射線照射時の環境などにより独立に変化する。東北大学の Zhao ら¹⁴⁾ は、14種の食道癌細胞について、SF2, D_q および D_0 の3種の放射線感受性指標を用いて DNA-PK 活性との相関を調べた。結果として、DNA-PK 活性と D_0 の間に相関が認められたが、DNA-PK 活性と SF2 または D_q の間には有意な相関は認められなかった。この結果から、放射線感受性と DNA-PK 活性との相関性の評価には放射線感受性の指標の取り方が影響することが示された。

ヒト細胞の放射線感受性と DNA-PK との相関に関する報告を表1にまとめる。報告を概観すると DNA-PK 活性または量と放射線感受性は、正常線維芽細胞は相関せず、癌細胞では相関するという傾向がみられる。ただし、放射線感受性および DNA-PK 活性の定量方法の影響など、今後も議論が続きそうである。

前述の Zhao らの研究から、細胞の放射線感受性の評価方法が DNA-PK 活性の相関性の評価に影響する可能性が示唆された。一方、DNA-PK 活性の評価方法も同様に相関性の評価に影響する可能性が考えられる。筆者らは、DNA-PK サブユニット蛋白質の細胞内局在が細胞の感受性に影響する事例を観察しており¹⁵⁾、DNA-PK の細胞内での局在も、放射線感受性の相関を評価する上で考慮する必要があると考えている。筆者らは、ラットの線維芽細胞で、細胞内の Ku の80% 程度が非照射の状態では細胞質に局在することと、放射線照射後に Ku 蛋白質が細胞質から核へと移動することを

表1 DNA-PK活性または量と放射線感受性の相関に関する報告

報告	細胞	放射線感受性の指標	DNA-PK の指標	放射線感受性と DNA-PK の相関
Allalunis-Turner ら ⁸⁾	グリオーマ	SF2	DNA-PK 活性	なし
Kasten ら ⁹⁾	線維芽細胞	SF3.5	DNA-PK 活性	なし
Carlomagno ら ¹⁰⁾	線維芽細胞	SF2	DNA-PKcs, Ku70 および Ku80 の発現量、DNA-PK 活性	なし
Sirzen ら ¹¹⁾	肺癌	SF2	DNA DSB の修復、DNA-PKcs, Ku70 および Ku80 の発現量	あり
Bjork-Eriksson ら ¹²⁾	頰頭部癌	SF2	DNA-PKcs, Ku70 および Ku80 発現量 (免疫染色)	あり (一部の結果を除いた場合)
Wilson ら ¹³⁾	頰部癌	SF2	Ku70 の発現量 (免疫染色)	あり
Zhao ら ¹⁴⁾	食道癌	SF2, D_q , D_0	DNA-PK 活性	あり (D_0 のみ)

観察した (図1B)。また、細胞の放射線感受性を増大させる (図1A) 高濃度 (0.5 M) の NaCl 処理によって、Ku 蛋白質の移動が抑制されることから、Ku 蛋白質の核への移動が放射線感受性に影響することを示唆した (図1B)。さらに、遺伝的に放射線感受性の高い LEC ラット細胞では、前述の Ku 蛋白質の移動が欠損していること (Okui et al. 投稿準備中) から、DNA-PK サブユニットの核内存在量が放射線感受性に影響することが示唆された。ゲノム DNA の修復は主として細胞核で実行されるため、細胞質に局在する Ku 蛋白質が DNA 修復に関与できないというのは、考えられることといえる。

従来、ヒトの細胞では DNA-PK のサブユニット蛋白質は核に局在しており、DNA-PK サブユニットの細胞内局在は放射線感受性の検討において特に考慮されてこなかった。一方では、Ku 蛋白質の局在がヒト細胞でも細胞周期などによって変化することが報告されており¹⁶⁾、ヒト細胞内での Ku 蛋白質の局在も DNA-PK の活性に影響する可能性は示されていた。著者らの得た知見から類推すると、ヒトの細胞でも核内の DNA-PK 活性に注目することにより、放射線感受性を予測するための精度

図 1 0.5 M NaCl 処理されたラット細胞の放射線感受性と Ku70 蛋白質の細胞内局在
 A: 放射線照射後20分間0.5 M NaCl処理されたラット線維芽細胞(●)の生残曲線。未処理群(○)に比べラット細胞の放射線感受性は増大した。
 B: 放射線照射されたラット細胞中の Ku70 蛋白質の細胞内局在。5Gy 照射された未処理(■)および 0.5 M NaCl 処理(▨)ラット細胞細胞100個について核に局在する Ku70 蛋白質の割合を観察し、ヒストグラムを作成した。非照射細胞(□)に比べ、照射された細胞では Ku70 蛋白質の核に局在する割合が増加したが、この増加は 0.5 M NaCl 処理によって消失した¹⁵⁾。

の高い指標が得られるかも知れない。ラットの細胞で試す限り、簡便な核単離法でも細胞核の DNA-PK 活性が測定できることから、簡便性および迅速性を維持したまま核内 DNA-PK 活性を実用的に定量できると考えられる。

筆者は獣医学部に所属している。獣医療においては、愛玩動物の放射線治療の需要が広がっており、筆者も今年から愛玩動物の放射線治療業務に参加することになる。言うまでもなく、

当分はヒトの医療での知見と技術の蓄積に依存した治療計画が立てられることと思う。しかしながら、愛玩動物の腫瘍細胞の放射線感受性はヒトの腫瘍の場合よりも多様である可能性があり、ヒト細胞と実験動物のみでは得られない知見を得ることが期待される。DNA-PK 活性などの指標から腫瘍の放射線感受性を予測し、効果的な治療計画を立てるためには、愛玩動物細胞の放射線感受性と DNA 修復に関する研究の

重要性を認識する必要があると考えられる。

文 献

- 1) Hartley, K. O. et al. : *Cell*, **82**, 849-856 (1995)
 - 2) Mimori, T. et al. : *J. Clin. Invest.*, **68**, 611-620 (1981)
 - 3) Gottlieb, T. M. and Jackson, S. P. : *Cell*, **72**, 131-142 (1993)
 - 4) Jeggo, P. A. : *Mutat. Res.*, 384, 1-14 (1997)
 - 5) Roth, D. B. and Wilson, J. H. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **82**, 3355-3359 (1985)
 - 6) West, C. M. et al. : *Br. J. Cancer*, **76**, 1184-1190 (1997)
 - 7) Lees-Miller, S. P. et al. : *Science*, **267**, 1183-1185 (1995)
 - 8) Allalunis-Turner, M. J. et al. : *Cancer Res.*, **55**, 5200-5202 (1995)
 - 9) Kasten, U. et al. : *Br. J. Cancer*, **79** 1037-1041 (1999)
 - 10) Carlomagno, F. et al. : *Int. J. Cancer*, **85**, 845-849 (2000)
 - 11) Sirzen, F. et al. : *Eur. J. Cancer*, **35**, 111-116 (1999)
 - 12) Bjork-Eriksson, T. et al. : *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **45**, 1005-1010 (1999)
 - 13) Wilson, C. R. et al. : *Br. J. Cancer*, **83**, 1702-1706 (2000)
 - 14) Zhao, H. J. et al. : *Clin. Cancer Res.*, **6**, 1073-1078 (2000)
 - 15) Endoh, D. et al. : *Radiat. Res.*, **155**, 320-327 (2001)
 - 16) Yaneva, M. and Jhiang, S. : *Biochim. Biophys. Acta*, **1090**, 181-187 (1991)
-