



Tokyo Tech

令和元年 7 月 10 日

報道機関各位

東京工業大学広報・社会連携本部長
佐藤 勲

放射線による皮膚への影響を解明

—皮膚の防護剤や疾患の治療薬、化粧品の開発などに道—

【要点】

- ヒト iPS 細胞から作製した皮膚ケラチノサイトの放射線応答の分子機構を解明
- 幹細胞、前駆細胞などの分化度の違いによる放射線応答の違いが明確に
- がんや老化のメカニズム解明など様々な分野への波及効果が期待される

【概要】

東京工業大学 科学技術創成研究院 先端原子力研究所の島田幹男助教と松本義久准教授、大学院総合理工学研究科の三宅智子大学院生、科学技術創成研究院 未来産業技術研究所の沖野晃俊准教授らの研究グループは、iPS 細胞から**皮膚ケラチノサイト**（用語 1）を作製し、皮膚における**放射線の生体影響**（用語 2）を明らかにした。iPS 細胞から作製した皮膚ケラチノサイトにおける基礎的な放射線応答を解析した最初の例であり、がんや老化のメカニズム解明だけでなく、放射線治療における皮膚防護剤や皮膚疾患の治療薬、化粧品の開発などにも役立つことから、様々な分野への波及効果が期待される。

生体では常に内因性、外因性のストレスによりデオキシリボ核酸（DNA）損傷が生じているが、それらは生体に備わっている DNA 修復機構によって修復される。修復しきれなかった損傷は蓄積し、細胞のがん化、老化につながる。特に皮膚表皮においては、表皮基底層に存在する**幹細胞、前駆細胞**（用語 3）が放射線による影響を受けやすいとされる。今回の研究は iPS 細胞から作製した皮膚ケラチノサイトを用いて幹細胞、前駆細胞などの分化度の違いによる放射線応答の違いを明らかにした。

研究はタカラベルモント株式会社と共同で実施し、研究成果は米国放射線腫瘍学会誌「*International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*」電子版に 5 月 11 日に掲載された。

●研究の背景

生体では細胞内代謝により発生する活性酸素などの内的要因や紫外線、放射線などの外的要因により、常に細胞内 DNA に損傷が生じている。その損傷は生体に本来備わっている DNA 修復機構によって直ちに修復されるが、稀に修復しきれなかった損傷が細胞内に蓄積することにより、細胞のがん化や老化につながると考えられている。

皮膚や筋肉、骨など身体を構成する体細胞の元になる幹細胞に DNA 損傷が蓄積すると、細胞減少や細胞機能低下につながり、様々な老化現象を引き起こす。例えば、皮膚付属器官である毛包組織（用語 4）において DNA 損傷により幹細胞が枯渇すると白髪、薄毛などの老化現象にいたる。

これまでヒト皮膚由来ケラチノサイトの放射線に対する DNA 損傷応答（用語 5）に関する報告は少なかった。そこで今回の研究ではヒト iPS 細胞からケラチノサイトを作製し、幹細胞から前駆細胞まで分化レベルの異なる細胞の DNA 損傷応答を比較した。また、実際の皮膚に近い三次元細胞培養（用語 6）実験系を用いて放射線応答を解析した。

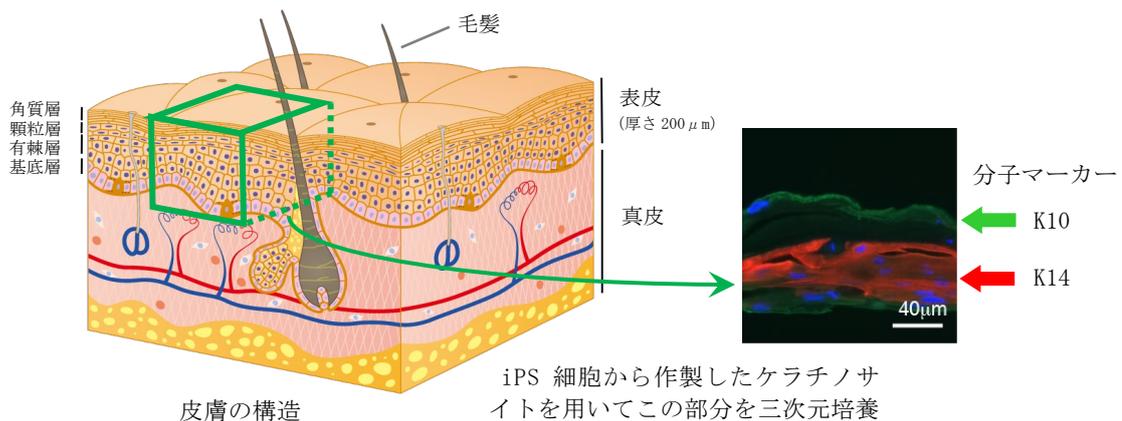


図1 皮膚の構造とそれらを模した三次元細胞培養の概略

皮膚の表面は表皮層と真皮層で構成されており、表皮層はさらに角質層、顆粒層、有棘層、基底層から成り立っている。今回の研究では表皮層を再構築するために、皮膚線維芽細胞と iPS 細胞由来皮膚ケラチノサイトを用いて三次元培養皮膚モデルを作製した。K14 と K10 はケラチノサイトの分子マーカーを示している。

●研究成果

ヒト皮膚線維芽細胞から作製した iPS 細胞を皮膚ケラチノサイトに分化誘導させ、線維芽細胞（用語 7）、iPS 細胞、iPS 細胞由来皮膚ケラチノサイトにおける放射線照射時の DNA 損傷応答の違いを解析した。iPS 細胞は線維芽細胞、ケラチノサイトに比べて、放射線に対する感受性が高く、死にやすい性質を持っていることが明らかになった。

DNA 修復は多くのタンパク質が関与するが、クロマチン（用語 8）内のヒストン H2AX（用語 9）のリン酸化などを指標に解析を行った。iPS 細胞ではリン酸化 H2AX を持つ細胞が放射線照射 8 時間経過後も 20%弱残っていたのに対し、継代（用語 10）1 回後のケラチノサイトでは 5%以下になっていた。

皮膚ケラチノサイトは、継代を重ねるごとに DNA 損傷修復速度に遅延がみられた。継代数が少ない細胞は幹細胞に近い性質を持っており、放射線照射により細胞生存率が低下し、プログラムされた細胞死であるアポトーシスの比率が増加したが、継代数の増加に伴い放射線に対して抵抗性を示すことがわかった。

以上の結果より、iPS 細胞は未分化の細胞であり、DNA が少しでも損傷した細胞ではアポトーシスによる細胞死を誘導するなど、DNA 損傷が残存することを防ぐ機構が備わっていると考えられた。それに対して、成熟したケラチノサイトでは DNA 損傷が修復される速度と割合が減少していた。ケラチノサイトは成熟すると細胞核が消失し、角質層を形成し、物理的な刺激から体を守るという役割を担っている。成熟したケラチノサイトはいずれ核が消失する運命にあるために DNA 損傷を修復する機能が低下しても問題ないと考えられる。

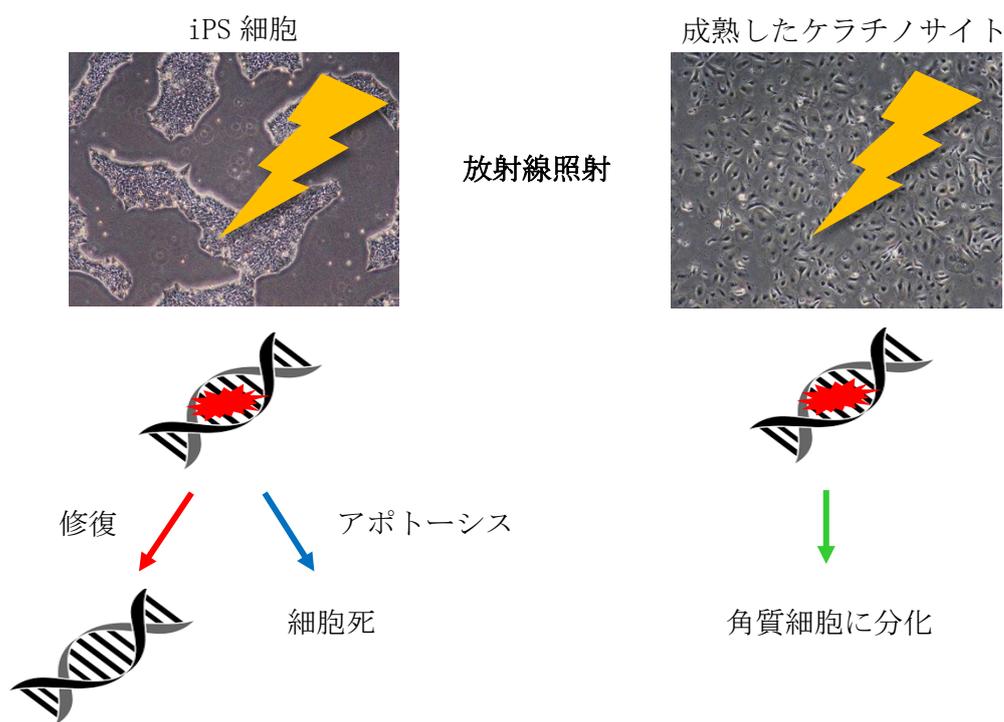


図 2 iPS 細胞とケラチノサイトでの放射線応答の違い

iPS 細胞では、少しでも DNA 損傷が残存するとアポトーシスによる細胞死を誘導する等の応答により、DNA 損傷が蓄積することを防ぐが、成熟したケラチノサイトでは DNA 損傷を修復する機能が低下している。iPS 細胞は未分化な細胞であり、DNA 損傷を子孫に残さないために、厳密な制御が行われているが、成熟したケラチノサイトは、さらに分化し角質細胞となり、剥がれ落ちる運命にあるため、放射線応答の違いが生じている。

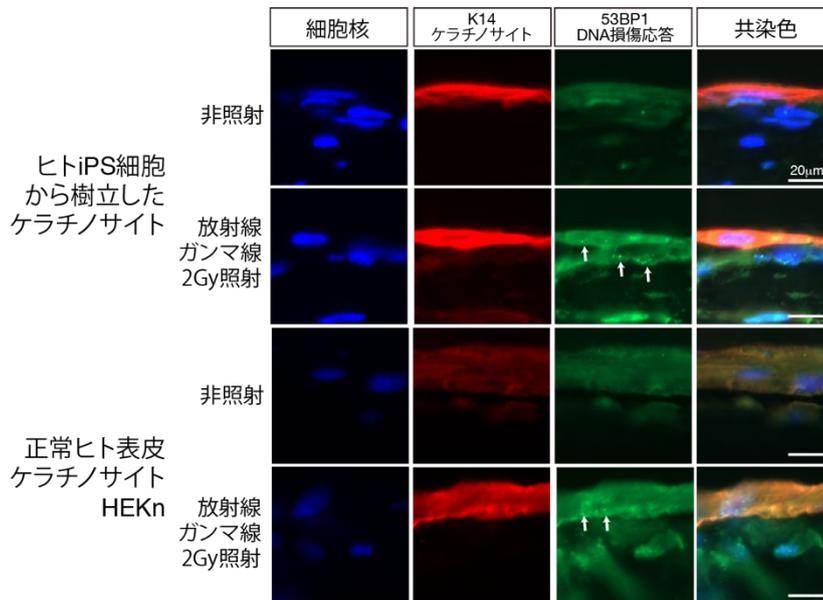


図3 皮膚三次元細胞培養と放射線応答

ヒト iPS 細胞由来ケラチノサイトと正常ヒト表皮ケラチノサイトから作製した三次元細胞培養モデル。K14 はケラチノサイトのマーカー、53BP1 は DNA 損傷マーカー。それぞれ放射線（ガンマ線）2Gy 照射後、免疫染色法により K14、53BP1 の抗体で染色した。放射線照射後、それぞれの細胞で 53BP1 がドット状になっていることがわかる（白矢印）。ドット状はフォーカスと呼ばれ、DNA 損傷が生じていることを示している。

●今後の展開

ヒトの皮膚に対する放射線影響は不明な点がまだまだ残されている。本研究で確立した実験系を用いて DNA 損傷だけでなく、放射線が細胞内応答や細胞間応答に与える影響の解明に貢献することが期待される。

【用語説明】

- (1) **皮膚ケラチノサイト**:皮膚角化細胞ともいう。表皮に存在する細胞の95%を占める。表皮の外層はケラチノサイトの角化(脱核)により形成され、皮膚の最外層として直接外部に接触しており、物理的な刺激から体を守る重要な部位である。
- (2) **放射線の生体影響**:ガンマ線やX線は直接的および間接的に細胞内DNAに損傷を与える。直接的には放射線のエネルギーによりDNA鎖を切断し、間接的には細胞内の水分子を励起し、反応性の高いフリーラジカルがDNA鎖に損傷を与える。
- (3) **幹細胞、前駆細胞**:幹細胞は自己複製能と様々な細胞に分化する能力(多分化能)を持つ特殊な細胞。この2つの能力により発生や組織の再生などを担う細胞と考えられている。幹細胞は幾つかに分類され、主に胚性

- 幹細胞 (ES 細胞)、成体幹細胞、iPS 細胞などがあげられる。前駆細胞は幹細胞から特定の体細胞や生殖細胞に分化する途中の段階にある細胞。
- (4) **毛包組織**：毛根を包む組織。毛根を保護し、毛の伸長の通路となる。上皮性毛包、硝子膜、結合組織性毛包から成る。毛包上部には脂腺が開口し、皮脂を分泌して、皮膚や毛の表面をなめらかにし、保湿する。
 - (5) **DNA 損傷応答**：放射線などにより細胞内のゲノム DNA は損傷をうける。これに対して生体は DNA 損傷応答機構という DNA 損傷を効率的に修復する防御機構を有している。これには様々なタンパク質が関与しており、H2AX や 53BP1 もそれらに含まれる。
 - (6) **三次元細胞培養**：近年の培養技術の発達および iPS 細胞などの再生医学の進歩により試験管内で様々な臓器の立体構造が再現できるようになってきた。これまでは試験管内で単層培養が主流であったが、立体的な培養をすることにより異なる細胞間同士の分子ネットワークの解明が進んでいる他、薬剤試験などに利用されている。
 - (7) **線維芽細胞**：肌のハリや弾力のもととなるコラーゲン、エラスチン、ヒアルロン酸を作り出す細胞。線維芽細胞が活発に働いている間はコラーゲン、エラスチン、ヒアルロン酸の新陳代謝がスムーズに行われ、ハリと弾力のある瑞々しい肌を保っているが、老化や紫外線などのダメージにより、線維芽細胞が衰えて働かなくなると、新陳代謝は鈍り、コラーゲンやエラスチンが変性することで弾力を失い、ヒアルロン酸が失われることで水分が減少していく。
 - (8) **クロマチン**：細胞の核内にある DNA とタンパク質の複合体。タンパク質であるヒストンに DNA が巻きついたヌクレオソームが集まった状態。
 - (9) **ヒストン H2AX**：ヒストンは、タンパク質である H2A、H2B、H3、H4 が 2 分子ずつ集まった 8 量体である。この H2A のバリエーションが H2AX であり、DNA 損傷時に H2AX の 139 番目のセリンがリン酸化される。
 - (10) **継代**：細胞の培養系から培地を取り除き、新しい培地に細胞を移す作業。

【論文情報】

掲載誌：*International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*

論文タイトル：DNA damage response after ionizing radiation exposure in skin keratinocytes derived from human induced pluripotent stem cells

(iPS 細胞由来皮膚ケラチノサイトにおける放射線照射後の DNA 損傷応答)

著者：Tomoko Miyake, Mikio Shimada, Yoshihisa Matsumoto, Akitoshi Okino

DOI：10.1016/j.ijrobp.2019.05.006

【問い合わせ先】

東京工業大学 科学技術創成研究院 先導原子力研究所
助教 島田幹男

Email: mshimada@lane.iir.titech.ac.jp

TEL: 03-5734-3703

FAX: 03-5734-3703

【取材申し込み先】

東京工業大学 広報・社会連携本部 広報・地域連携部門

Email: media@jim.titech.ac.jp

TEL: 03-5734-2975 FAX: 03-5734-3661