

DNA 損傷修復時におけるクロマチンリモデリングに關与する リジンメチル化酵素の解析

[1] 組織

代表者：勝木 陽子
(長崎大学大学院医歯薬学総合研究科)
対応者：安井 明・宇井 彩子
(東北大学加齢医学研究所)
分担者：
萩 朋男
(長崎大学大学院医歯薬学総合研究科)
永山 雄二
(長崎大学大学院医歯薬学総合研究科)
光武 範史
(長崎大学大学院医歯薬学総合研究科)

研究費：物件費 21 万 1 千円，旅費 8 万 9 千円

[2] 研究経過

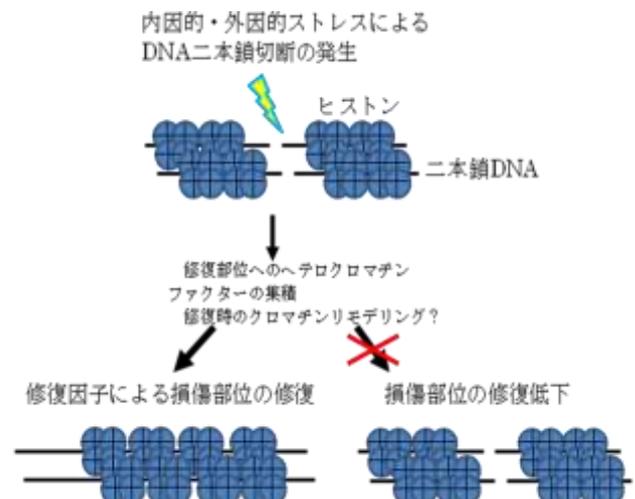
本研究は、ヘテロクロマチン因子のDNA損傷時における機能解明を目的とする。

これまで抗腫瘍効果を發揮する化学療法剤として、DNA傷害剤、特にDNA二本鎖損傷(DSB)を誘発する薬剤が数多く見出されてきたことを糸口に、現在もDSB修復遺伝子をターゲットとした放射線治療等の増感剤の開発が行われている。また近年、DSB修復効率を制御する要因として、新たにクロマチンリモデリング因子の関与が明らかにされ、種々のがん細胞で異なるリモデリング因子の欠失及び増幅が報告されているが、その分子基盤はほとんどわかっていない。

ヘテロクロマチン構造はDNA損傷修復のバリアーとして機能していることが、先行研究によって示唆されてきた。しかし最近の研究によって、ヘテロクロマチン構築に係わる分子がDSB部位に集積し、siRNA法を用いてそれらの分子を枯渇させた細胞では、修復効率が低下することが報告されている。申請者はこれまでに、ヘテロクロマチン構造の構築により転写抑制にかかわるヒストンメチル化酵素

SED1B1が、DSB修復経路のひとつである相同組換え修復(HR)に關与することを見出した。最近この遺伝子が悪性黒色腫において増幅していることが報告されたが、その阻害が修復経路の選択にどのような影響を与えるかについては明らかにされていない。本研究では、DNA損傷時におけるSED1B1の結合因子およびメチル化標的因子を探索することにより、DSB修復過程でヘテロクロマチン因子が果たす役割を解明し、がん治療法開発のための分子基盤の進展を目指す。

以上の目的のもと、種々の細胞生物学、分子生物学的手法を用いて実験を行い、得られた結果について、東北大学加齢研究所内において研究打ち合わせを行うこととなった。対応者のひとりである宇井彩子助教を企画者として本年2月14日に小セミナーを開催し、情報交換を行った。ミーティングは、安井教授、菅野新一郎講師、宇井助教および両対応者の共同研究者である大阪大学医学部の中田慎一郎独立准教授と国立がん研究センター研究所の萩原秀明研究員を交えて、各々の研究のプレゼンテーションを行い、活発な意見交換を行った。



[3] 成果

(3-1) 研究成果

本研究の先行研究では、SETDB1 が細胞への二本鎖 DNA 切断を含むレーザー照射領域に集積し、また SETDB1 をノックダウン法により枯渇した細胞では、相同組換え修復に重要な役割を果たしている家族性乳がんの責任遺伝子 BRCA1 の放射線照射による損傷部位への集積が減弱することが明らかになった。また BRCA1 およびリコンビナーゼ RAD51 の損傷部位への集積には、SETDB1 の SET ドメイン（メチル化酵素活性部位）が必要であることがわかってきたが、本研究では、SETDB1 を含むヒストンメチル化酵素の阻害剤を用いた場合も、BRCA1 のリクルートが減弱することが明らかになった。また、加齢研での研究打ち合わせの際、SETDB1 が BRCA1 と複合体を形成している BARD1 と結合するという先行研究があるとの助言をもらい、SETDB1 ノックダウン細胞において BARD1 の損傷部位へのリクルートを観察したところ、BARD1 の集積も減弱しており、BRCA1 は、BARD1 と SETDB1 の相互作用を介して損傷部位に効率的に集積する可能性が示唆された。

これまでに、BRCA1 の損傷部位へのリクルートに関与する因子はいくつか報告されているが、そのうち DNA の二本鎖切断時に起こるヒストンのユビキチン化シグナル経路において重要な E3 リガーゼ RNF8/RNF168 がある。SETDB1 をノックダウンした細胞でも、RNF168 が損傷部位に集積できること、また、RNF8/RNF168 によるヒストンのユビキチン化依存的に DNA 二本鎖切断部位にリクルートされる RAP80 も、ほとんど影響を受けないことから、SETDB1 が BRCA1 をリクルートするメカニズムは、損傷部位でのヒストンユビキチン化とは独立しておこっていると考えられた。

(3-2) 波及効果と発展性など

本研究は、これまで DNA 損傷時のシグナル経路および修復経路に対し負の働きをされると考えられてきたヘテロクロマチン構造を形成するファクターが、実際には正常な修復に必要であることを明らかにした。これまでの本研究から、ヘテロクロマチンファクターの修復過程における役割には2つの可能性が考えられる。ひとつは、損傷非依存的に、ヘテロクロマチンファクターによって正常なクロマチン構造が形成、維持されることが、正常な修復反応を行うために寄与している可能性がある。もうひとつは、損傷部位特異的に、一過性のヘテロクロマチン化が起こることが、修復過程に必要である可能性である。SETDB1 は、ほかの修復因子と同様に、DNA 損傷後に局所的集積がみとめられることから、後者の可能性もありうるが、現段階での実験結果からは、どちらであるか（もしくはどちらにも関与しているのか）を判定することは難しいため、損傷部位におけるクロマチン構造と修復効率がどのように相互作用しているのかを明らかにするために、今後の発展が待たれる。クロマチン構造の変換に必要な遺伝子群は数多く存在し、近年それらの遺伝子に異常をもつがんが次々と報告されており、直接的な修復因子による機構のみならず、修復の効率化を担っているクロマチン構造の形成維持のメカニズムを明らかにすることは、新たながんの治療標的の探索に貢献することが期待される。

[4] 成果資料

今年度の研究成果資料について、未だ該当する主要論文はないが、現在代表者の論文が revision の段階である。