

課題番号 65

## DNA 損傷応答におけるエピゲノム制御因子 ASXL1 の役割の解明

### [1] 組織

代表者：藤野 赴至

(東京大学医科学研究所)

対応者：宇井 彩子

(東北大学加齢医学研究所)

研究費：消耗品 20 万円

### [2] 研究経過

エピゲノム制御因子 *DNMT3A*、*TET2*、および *ASXL1* の変異は、急性骨髄性白血病や骨髄異形成症候群などの骨髄系腫瘍でしばしば認められる。これまでの研究より、エピゲノム制御因子の変異は造血器腫瘍の発症過程において最も早期に生じる遺伝的変化の一つであることが示唆されているが (Genovese et al. *N Engl J Med*, 2014)、その理由は明らかになっていない。また *ASXL1* は、ヒストン H3 の K4/K27 メチル化に関与することが知られているが、我々は *ASXL1* 変異体が脱ユビキチン化酵素 BAP1 と協調し、抑制性ヒストン修飾である H2AK119 の脱ユビキチン化を強く促進し、遺伝子発現を脱抑制することを明らかにした (Asada et al. *Nat. Commun*, 2018)。*ASXL1* 自体に酵素活性はなく、ヒストン修飾の足場蛋白質として機能することが示唆されている。

近年の研究により、転写装置による DNA 修復の阻害を防ぐため、DNA 損傷部位近傍に H2AK119Ub が付加され、転写が抑制されることが示された (Ui et al. *Molecular Cell*, 2015)。このように、クロマチン動態の変化と DNA 損傷応答の関連性が明らかになりつつあるが、その分子機構や疾患との関連性は現在も不明な点が多い。

本研究の目的は、*ASXL1* 変異の解析を通して、DNA 損傷応答におけるエピジェネティクスの役割を明らかにし、腫瘍の発症過程における DNA 損傷の蓄積の原因を解明することである。その目的のため、(1) 変異型 *ASXL1* ノックインマウスを用いて *ASXL1* 変異が DNA 損傷応答に及ぼす影響を *in vivo* で検討し、

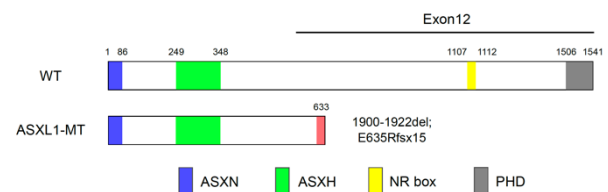
(2) その背景にあるエピジェネティクスと DNA 損傷応答の関連を分子生物学的手法によって詳細に解析する。

双方の実験経過は数ヶ月に一度の頻度でオンライン上で報告し、情報の共有に努めた。

### [3] 成果

(3-1) 研究成果

まず、*ASXL1* の DNA double strand breaks (DSBs) への結合能力の評価を行った。*ASXL1* の野生型 (WT)



および変異型 (MT) の C 末端に GFP を融合し、それらの DSB 部位への集積を Laser micro irradiation で検討した (図 1)。

図 1. *ASXL1*-WT および MT タンパク質の構造  
*ASXL1* 蛋白質は 1541 残基のアミノ酸から構成され、N 末端領域に ASXH ドメインが、C 末端領域に plant homeodomain (PHD) ドメインが存在する。患者で見出される変異は、ラストエクソン 5' 側のフレームシフト変異やナンセンス変異が大部分であり、これにより PHD ドメインが欠失した変異型 *ASXL1* 蛋白質が生じる。

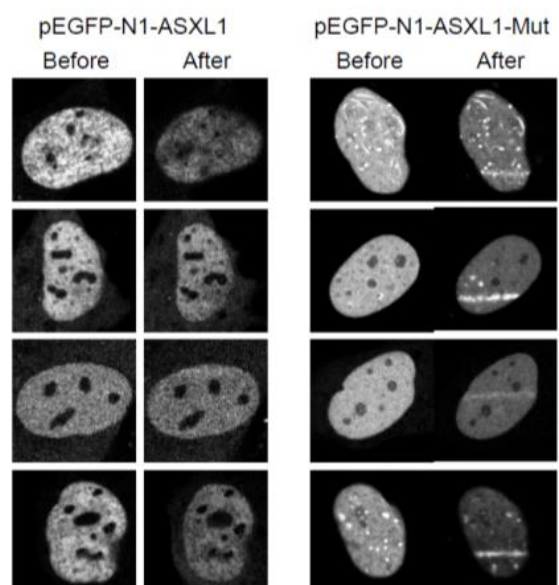


図2. GFP-ASXL1-WT および GFP-ASXL1-MT のレーザー照射部位への集積の検討

その結果、レーザー照射部位への ASXL1-MT の集積が観察された一方、ASXL1-WT ではそのような集積は認められなかった (図2)。

GFP 強度を定量すると、ASXL1-MT は ASXL1-WT と比較して強くレーザー照射部位に集積していることが明らかになった (図3)。

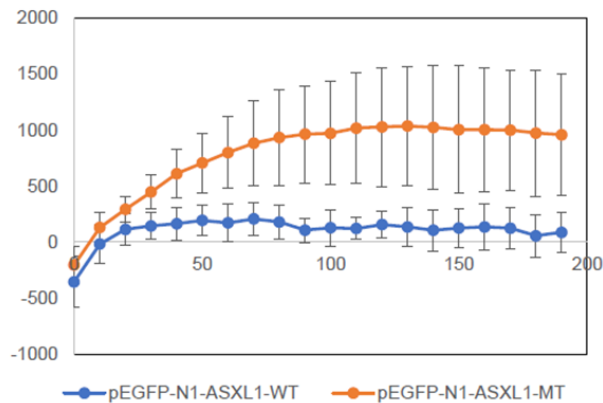


図3. レーザー照射部位における GFP-ASXL1-WT および GFP-ASXL1-MT の GFP 強度の定量

また、GFP を ASXL1 の N 末端に付加して同様の実験を行ったところ、C 末端に GFP を付加した場合と同様に、レーザー照射部位への ASXL1-MT の集積が認められた (図4)。

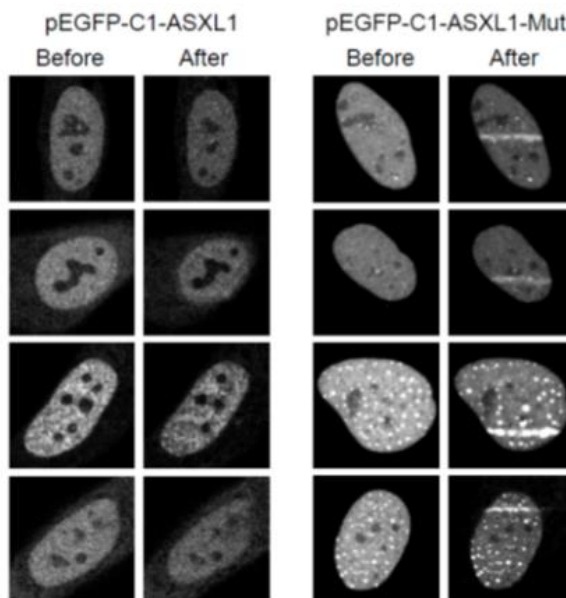


図4. ASXL1-WT-GFP および ASXL1-MT-GFP のレーザー照射部位への集積の検討

GFP の蛍光強度を定量すると、レーザー照射部位における ASXL1-MT の高度な集積が明らかとなった

(図5)。

以上の結果より、ASXL1-WT と比較して、C 末端領域を欠失した ASXL1-MT は DSB 部位に強く集積することが明らかとなった。

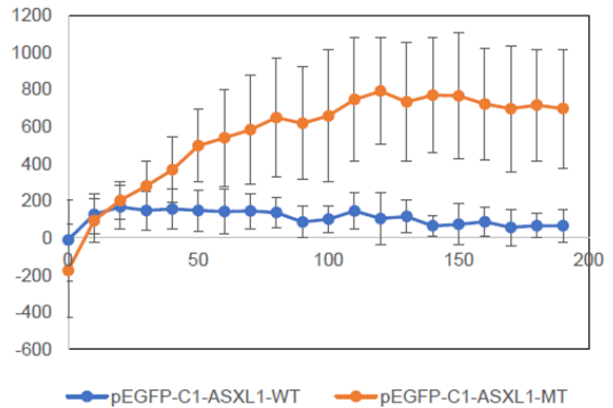


図5. レーザー照射部位における ASXL1-WT-GFP および ASXL1-MT-GFP の GFP 強度の定量

### (3-2) 波及効果と発展性など

これまで、エピゲノム制御因子の変異による造血器腫瘍の発症機序は、遺伝子発現の変化に着目して研究が行われてきた。それに対し、本研究ではその病因として遺伝子発現そのものではなく、エピジェネティクスの変化に起因する DNA 損傷応答の異常に焦点を当てている点特徴的である。本研究の成果の一端は、造血器腫瘍の病態機序の解明のみならず、エピゲノムによる遺伝的安定性の維持機構の理解という、一般的な概念に拡張されることが期待される。

### [4] 成果資料

現時点では当該研究における成果は未発表である。