

課題番号 64

エピゲノム制御因子 ASXL1 の DNA 損傷応答と転写制御を介したゲノム安定性維持機構における機能

[1] 組織

代表者：榎本 豊

(東京大学)

対応者：宇井 彩子

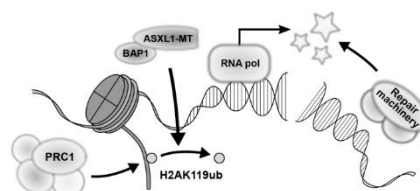
(東北大学加齢医学研究所)

研究費：物件費 20 万円

[2] 研究経過

エピゲノム制御因子である *DNMT3A*、*TET2*、および *ASXL1* の変異は、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变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 のメチル化に関与することが知られているが、我々は *ASXL1* の変異体が脱ユビキチン化酵素 BAP1 と協調して、H2AK119 の脱ユビキチン化を強く促進することを明らかにした (図1; 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。さらに加齢医学研究所の宇井准教授により、転写装置による DNA 修復の阻害を防ぐため、DNA 損傷部位近傍に抑制性ヒストン修飾である 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)。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には今も不明な点が多い。

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、DNA 損傷の蓄積の原因を解明することである。今まで宇井准教授との共同研究により、(1) *ASXL1* 変異蛋白質は野生型に比べて過剰に DNA 損傷に応答すること、またこの応答は PARP1 のシグナル依存的に応答することを見出した。そこで本研究では下記を明らかにする。宇井准教授とは数か月に1度ほど、メールやオンラインで実験相談や打ち合わせを行った。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

C 末欠失型 *ASXL1* と野生型 *ASXL1* を発現する造血幹細胞に2グレイ放射線照射して DNA 修復をγH2AX 染色によって解析した。時間経過を調べたところ、C 末欠失型 *ASXL1* を発現する細胞では、照射後のγH2AX の立ち上がりが遅く、消失も遅いことを確認した。この結果は DNA 修復が遅延するが修復自体は起こっていることを示唆した (図1)。

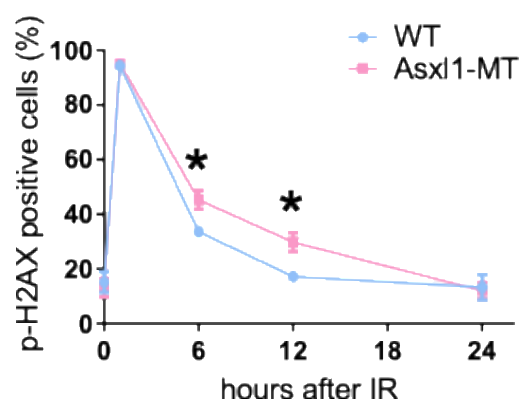


図1 変異型 *ASXL1* は DNA 修復を遅延させる

そこで次に *ASXL1* 変異が存在すると DNA 修復の遅延あるいは不完全によって DNA 変異率が上昇する

可能性を考え、変異型 ASXL1 ノックインマウスとコントロールマウス (Vav-Cre と交配する前で変異型 ASXL1 を発現していないマウス) の変異率を調べた。変異率は低いことが考えられるため、これらのマウス (40 週齢) の骨髓細胞を採取してコロニー形成させることによりシングルクローン化し、コロニーの全エクソン Sequence を 5 クローンずつ行った。その結果、変異率が高くなっているという証拠は得られなかった。ただ解析数が少ないため conclusive ではない。

次に正常マウスと ASXL1-MT マウスの骨髓細胞を競合的に移植し、4 ヶ月後に X 線を照射した。末梢血および骨髓中の Asxl1-MT マウス由来細胞のキメリズムを観察したところ、ASXL1-MT マウスの骨髓は正常マウス骨髓細胞に凌駕された (図 2)。

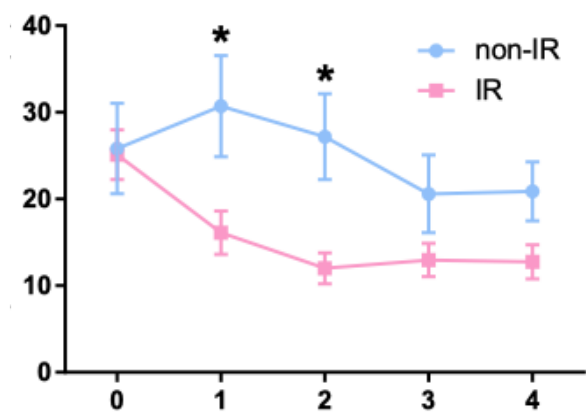


図2 正常骨髓と ASXL1-MT 骨髓の競合移植。移植後 2 ヶ月 (0) で照射

照射後の幹細胞ではアポトーシスが亢進していることが明らかになった。また NHEJ による DNA 修復能が低下していることも明らかになった。ASXL1 は Ku70 に結合することも判明した。これらの結果は ASXL1 変異が DNA 修復を遅延することを介して幹細胞機能に影響を及ぼしていることを示唆している。しかしながら、DNA 修復の遅延と幹細胞機能低下の関係性に関しては、DNA 修復遅延がアポトーシスを誘導したり幹細胞性に影響を与えると可能性などが考慮されるが、未だ未知の点が多くさらなる解析が必要である。

(3-2) 波及効果と発展性など

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变化の一つであると考えられている。ASXL1 はエピゲノム制御因子であり、骨髓系腫瘍でしばしば認められるが、その機能は不明な点が多い。本研究により

ASXL1 の DSB における機能が明らかになれば、造血器腫瘍の発症過程のメカニズムの解明とそれをターゲットとした治療法の基盤的研究になる可能性が見込まれる。

[4] 成果資料

こちらは現在解析や実験が進行中の研究であり、未だ学会や論文で発表を行っていないが、今後は成果を発表していく予定である。