



紫外線 DNA 損傷やキノコ毒 DNA 損傷によるゲノム不安定化を防ぐ DNA 損傷トレランスは2つのサブ経路から構成される

～ゲノム安定性制御機構の全体像の解明と新たながん治療戦略の展開に期待～

名古屋大学環境医学研究所 ゲノム動態制御分野 / 大学院医学系研究科 分子機能薬学の金尾 梨絵 助教、益谷 央豪 教授らの研究グループは、広島大学、東海大学、京都大学との共同研究により、損傷を受けた DNA を複製する (DNA 損傷トレランス) 機構には、色素性乾皮症の責任遺伝子産物である DNA ポリメラーゼ^{注1)}・イータなどによる「損傷乗り越え DNA 合成」に加えて、ファンコニ貧血^{注2)} の責任遺伝子産物である RFWD3 が関わる経路が重要であることを明らかにしました。ゲノム DNA に傷 (DNA 損傷) が生じると、DNA 複製が阻害され、ゲノム不安定性の原因となり、細胞のがん化や細胞死につながります。このような事態を避けるため、細胞には「DNA 修復」と、損傷を残したまま DNA を複製する「DNA 損傷トレランス」というしくみが備わっています。DNA 損傷トレランスには、損傷を乗り越えて DNA 合成を行うことのできる一群の DNA ポリメラーゼが担う「損傷乗り越え DNA 合成」と「未同定の経路」があり、ゲノム安定性制御に重要である一方で、がん細胞の抗がん剤耐性に寄与しています。

DNA 損傷トレランスの制御には、DNA 上をスライドするリング状のタンパク質である PCNA のモノユビキチン化^{注3)} が重要な役割を果たします。本研究では、PCNA のユビキチン化に依存した DNA 損傷トレランスは、損傷の種類に応じて適切な DNA ポリメラーゼが担う損傷乗り越え DNA 合成経路と RFWD3 の関わる経路とによって構成されることを明らかにしました。RFWD3 は先天性骨髄不全症候群のファンコニ貧血の責任遺伝子の一つであり、DNA 二本鎖間の架橋損傷の修復に関与します。しかし、興味深いことに、RFWD3 は鎖間架橋修復 (いわゆる FANCD1 経路) とは独立の異なるメカニズムにより DNA 損傷トレランスで重要な役割を担うことを明らかにしました。

本研究成果は、2022 年 7 月 29 日付 (日本時間 7 月 29 日 22 時) 国際科学誌『Life Science Alliance』に掲載されました。

本研究は、科研費基盤研究 B (20H04335)、科研費挑戦的研究 (萌芽) (21K19843)、科研費基盤研究 C (21K12238)、武田科学振興財団の支援のもとで行われたものです。

ポイント

- ツキヨタケの毒性成分であるイルジン S 及びその誘導体のイロフルベンを用いることにより、新規の DNA 損傷トレランス機構を検出することに成功した。
- PCNA のユビキチン化に依存する DNA 損傷トレランスには、色素性乾皮症バリエーション群^{注4)}の責任遺伝子産物である DNA ポリメラーゼ・イータなどによる損傷乗り越え DNA 合成と、ファンコニ貧血責任遺伝子産物である RFWD3 の関わる経路の 2 つの主な経路があることを示した。
- 紫外線損傷に対しては DNA ポリメラーゼ・イータ、イルジン S に対しては DNA ポリメラーゼ・カッパが損傷乗り越え DNA 合成を担い、RFWD3 はどちらの損傷についても重要な役割を担うことを示した。
- RFWD3 は鎖間架橋修復 (FANC 経路) に関与するが、DNA 損傷トレランスでは、FANC 経路とは独立して働くことを示した。
- 本研究成果はゲノム安定性を維持するしくみだけでなく、抗がん剤耐性のメカニズムの解明及びその克服法の開発になることが期待される。

1. 背景

遺伝情報の担い手であるゲノム DNA に損傷が生じると、転写や DNA 複製が阻害され、ゲノム不安定化の原因となり、細胞のがん化や老化、細胞死を引き起こします。このような事態を防ぐために、細胞には DNA 上の損傷を治す「DNA 修復」に加え、DNA 損傷を残したまま DNA を複製する「DNA 損傷トレランス」というしくみが備わっています。DNA 損傷トレランスはゲノム安定性を維持する一方で、がん細胞の抗がん剤耐性にも寄与しています。DNA 損傷トレランスには、DNA 上をスライドするリング状のタンパク質である PCNA のユビキチン化が重要であることが知られています。DNA 損傷トレランスのメカニズムの一つである損傷乗り越え DNA 合成は、特殊な DNA ポリメラーゼが損傷 DNA を鋳型として DNA 合成を行い、これは PCNA のモノユビキチン化により活性化されることが明らかになっています。しかし、ヒト細胞では損傷乗り越え DNA 合成以外のメカニズムはあまりよくわかっていません。

地上の生物にとって最も脅威な DNA 損傷の一つは紫外線による DNA 損傷ですが、紫外線損傷に対しては、DNA ポリメラーゼ・イータによる損傷乗り越え DNA 合成が主要な DNA 損傷トレランス経路です。DNA ポリメラーゼ・イータをコードする遺伝子の変異は、日光過敏症や高頻度の皮膚がんを主症状とする遺伝性疾患である色素性乾皮症バリエーション群の原因となります。DNA ポリメラーゼ・イータの発見以後、複数の損傷乗り越え DNA ポリメラーゼが同定され、損傷乗り越え DNA 合成については理解が進んできました。一方で、生物は損傷乗り越え DNA 合成以外の DNA 損傷トレランス経路を備えていると考えられていますが、その機構に関わる分子など、その実態はほとんど明らかにされていませんでした。

2. 研究成果

本研究チームは、DNA ポリメラーゼ・イータによる損傷乗り越え DNA 合成以外の DNA 損傷トレランスのメカニズムを明らかにするために、ツキヨタケの毒性成分である天然化合物のイルジン S、

及びその誘導体のイロフルベンを DNA 損傷剤として用いました。イルジン S、イロフルベンは比較的嵩高いアルキル化型の DNA 損傷を生じますが、この DNA 損傷に対する細胞の抵抗性には、DNA ポリメラーゼ・イータによる損傷乗り越え DNA 合成は関与しないことが示唆されていたためです。イルジン S、イロフルベンで生じる DNA 損傷は、DNA 修復機構のひとつである、転写と共役したヌクレオチド除去修復（転写の妨げとなる DNA 損傷を優先的に修復する機構）で修復されることが示されていたため、イルジン S、イロフルベンの感受性は転写と共役したヌクレオチド除去修復因子の機能不全のマーカーとして扱われてきました。しかし、本研究で、これらの化合物の感受性は DNA 損傷トレランスの機能不全の指標にもなることを示しました。

本研究ではイルジン S、イロフルベン損傷に対して、損傷乗り越え DNA 合成を行う DNA ポリメラーゼである DNA ポリメラーゼ・カッパと、先天性骨髄不全症候群のファンコニ貧血の責任遺伝子産物の RFWD3 タンパク質が DNA 損傷トレランスに関与することを示しました。DNA ポリメラーゼ・カッパと RFWD3 は、どちらも PCNA のユビキチン化と同じ経路で働きますが、興味深いことに、それぞれは独立に DNA 損傷トレランスに寄与することを明らかにしました。つまり、イルジン S、イロフルベン損傷に対しては、PCNA のユビキチン化依存的に、DNA ポリメラーゼ・カッパによる損傷乗り越え DNA 合成と、RFWD3 経路の 2 つの DNA 損傷トレランス経路が存在すると考えられます。

ファンコニ貧血の責任遺伝子は現在までに 20 以上同定されており、これらの遺伝子がコードするタンパク質群は、DNA 二本鎖間が架橋される DNA 損傷（鎖間架橋）を修復する、鎖間架橋修復に重要であることが知られています。RFWD3 も鎖間架橋修復に重要な役割を果たすことが報告されていますが、本研究では、RFWD3 は他の鎖間架橋修復因子とは独立に、DNA 損傷トレランスで働くことを示しました。

さらに、RFWD3 はイルジン S、イロフルベンという特殊な DNA 損傷に対してだけでなく、紫外線損傷に対しても、DNA ポリメラーゼ・イータとは独立して DNA 損傷トレランスに関与することを明らかにしました。つまり、ヒト細胞の DNA 損傷トレランスは、損傷の種類に応じた DNA ポリメラーゼによる損傷乗り越え DNA 合成と、多様な種類の損傷に対応する RFWD3 経路により構成されていることが強く示唆されました。

3. 今後の展開

DNA 損傷トレランスはゲノム安定性の維持に重要なメカニズムではありますが、一方で、DNA 損傷による DNA 複製阻害を引き起こすことで細胞死を誘導する、シスプラチンのような抗がん剤に対しては、耐性に寄与するという側面があります。今後は RFWD3 の DNA 損傷トレランスにおける詳細な機能を解析するとともに損傷乗り越え DNA 合成との連携機構などを解明することにより、ゲノム安定性を維持するしくみだけでなく、抗がん剤耐性のメカニズムの解明及びその克服法の開発になることが期待されます。

4. 用語説明

注 1) DNA ポリメラーゼ ;

DNA 複製において、鋳型 DNA の塩基に相補的な塩基を持つヌクレオチドを重合し、新たな DNA 鎖を合成する酵素。

注 2) ファンコニ貧血 ;

造血不全、骨髄異形成症候群、急性骨髄性白血病などが見られる遺伝性疾患。原因遺伝子産物は二本鎖 DNA 間の架橋を修復するメカニズムに関与する。

注 3) ユビキチン化 ;

タンパク質修飾の一つでユビキチンというタンパク質が基質タンパク質に付加される。タンパク質分解の他、様々な生命現象に関わることが知られている。基質にユビキチン分子が一つ付加されることをモノユビキチン化と呼ぶ。

注 4) 色素性乾皮症バリエーション群 ;

日光過敏症や高頻度の皮膚がんを主症状とする常染色体潜性遺伝疾患。8 つある色素性乾皮症遺伝的相補性群のひとつで、紫外線損傷の修復に異常がある他の 7 つの相補性群とは異なり、紫外線損傷の複製に異常がある。

5. 発表雑誌

掲雑誌名 : Life Science Alliance

論文タイトル : RFWD3 and translesion DNA polymerases contribute to PCNA modification-dependent DNA damage tolerance

著者 : Rie Kanao^{1,2}, Hidehiko Kawai³, Toshiyasu Taniguchi⁴, Minoru Takata⁵, and Chikahide Masutani^{1,2*}

所属名 :

1 Department of Genome Dynamics, Research Institute of Environmental Medicine, Nagoya University

2 Department of Molecular Pharmaco-Biology, Nagoya University Graduate School of Medicine,

3 Department of Nucleic Acids Biochemistry, Graduate School of Biomedical and Health Sciences, Hiroshima University

4 Department of Molecular Life Science, Tokai University School of Medicine

5 Laboratory of DNA Damage Signaling, Department of Late Effects Studies, Radiation Biology Center, Graduate School of Biostudies, Kyoto University

DOI : 10.26508/lisa.202201584

English ver.

https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_E/research/pdf/Lif_220801en.pdf