

論文の内容の要旨

減数分裂特異的分子 SYCE1 の体細胞発現による

DNA 損傷抵抗性の誘導

藤井 義大

がんの治療法において、外科的治療、化学療法、放射線療法は 3 本柱を成すが、個々のがん、個々の症例で治療の反応性が異なるため、個々のがんの特性を踏まえた治療が重要である。放射線療法と多くの化学療法は、主として DNA 二本鎖切断によって抗腫瘍効果を発揮するため、DNA 二本鎖切断の細胞応答のメカニズムを理解し、個々のがん細胞における DNA 損傷への応答能力の特性を知ることは極めて重要である。一方、近年、通常は精巣や卵巣といった生殖細胞のみで発現を示す蛋白質が、がん細胞に異所的に発現していることが数多く報告されている。このような蛋白質は、がん精巣抗原 (cancer testis antigen : CTA) とも呼ばれ、その特異的な発現のパターンから、がん治療の新たなターゲットとして期待されている。しかし、それらの分子の体細胞での役割は殆ど明らかにされていない。本研究では、減数分裂特異的な構造物であるシナプトネマ複合体の形成分子の 1 つである SYCE1 のがん細胞での発現と体細胞での役割につ

いて検討した。

まず、RT-PCR 法、及び、ウエスタンブロット法により、様々ながん細胞株における SYCE1 の発現の有無について調べたところ、HT1080 (ヒト線維肉腫細胞) と H358 (ヒト肺腺がん細胞) においてその発現が検出され、SYCE1 ががん精巢抗原であることが確認された。続いて、正常体細胞株に SYCE1 を安定発現させ、SYCE1 の発現が体細胞における DNA 損傷応答能をはじめとする細胞の性質にもたらす影響について検討を行った。まず、野生細胞株と SYCE1 発現細胞株を放射線とシスプラチンで処理後、コロニー形成法により細胞生存率を比較した。その結果、SYCE1 発現細胞は、野生株に比べ、細胞生存率が上昇し、放射線とシスプラチンに対する抵抗性を示した。そのメカニズムを明らかにするために、DNA 損傷に応答するシグナル伝達経路で働く分子の挙動の変化を調べた。まず、SYCE1 発現細胞において、DNA 二本鎖修復経路の一つである相同組換え修復の初期過程において中心的な役割を担う分子である RAD51 について免疫染色を行ったところ、放射線照射時のフォーカス形成が増加し、その機能が亢進していることが明らかになった。さらに、SYCE1 発現細胞において、RAD51 の上流で働いている ATM、 γ H2AX、BRCA1、53BP1 などの機能の亢進も観察できた。具体的には、RAD51 と同様に、放射線照射時の BRCA1 と 53BP1 のフォーカス形成が増加していた。また、放射線非照射時において γ H2AX のフォーカス形成が増加しており、内因性の DNA 損傷が蓄積していることが示唆された。さらに、ウエスタンブロット法により、DNA 損傷応答の初期における重要なセンサー分子である ATM の蛋白質量が、放射線非照射時と照射時の両方において増加していることも分かった。更に、免疫沈降・ウエスタンブロット法を用いて、ATM 自身を活性化して下流へシグナルを伝達するのに重要な ATM のセリン 1981 番の自己リン酸化能を調べたところ、SYCE1 発現細胞において ATM の自己リン

酸化が有意に亢進していることが明らかになった。逆に、SYCE1 を発現するがん細胞において、siRNA を用いて SYCE1 の発現を抑制した場合には、上記の放射線とシスプラチンに対する抵抗性やDNA 損傷応答分子の機能の亢進の表現型が回復することも確認できた。

近年、ヒストンの翻訳後修飾やクロマチン構造の変化が ATM の機能の制御において重要な役割を果たすことが示唆されている。そこで、SYCE1 発現細胞における各種ヒストンの修飾の変化を調べたところ、転写、複製、修復などに関わるという報告のあるヒストン H4 のリジン 12 のアセチル化の亢進が観察された。これらの結果より、SYCE1 が体細胞において発現すると、ヒストン H4 のアセチル化の亢進とクロマチン構造の変化をもたらし、ATM、 γ H2AX、53BP1、BRCA1 などの DNA 損傷応答の初期のシグナル伝達を活性化し、最終的に RAD51 などの DNA 損傷修復系が亢進することにより、放射線とシスプラチンに対する抵抗性を獲得すると考えられる。ATM の機能亢進をもたらす腫瘍精巢抗原はこれまでに報告されておらず、本研究により、減数分裂特異的分子の体細胞での発現による DNA 損傷応答の新たな制御機構を発見することが出来た。今後、本研究で亢進することが確認されたヒストン H4 リジン 12 のアセチル化を制御する Tip60、HAT1 などのアセチル化酵素や、アセチル化の補助をする働きのある ASF1 などの分子の挙動の変化に着目して、SYCE1 による DNA 損傷応答の制御機構の詳細を明らかにしていきたい。

近年、がん精巢抗原を標的としたがん治療の試みがなされている。SYCE1 を発現するがんにおいては、SYCE1 分子そのものが治療の標的となり得る。その上、ATM 分子を中心とした DNA 損傷応答・修復系が亢進していることから、SYCE1 を発現するがんにおいて ATM 阻害剤を投与することにより、放射線やシスプラチンに対する抵抗性を解除することによって DNA 損傷性の治療効果を高

めるという治療戦略も考えられる。このような臨床応用につながる基盤研究としてもこの研究を発展させていきたい。