

審査の結果の要旨

氏名 藤井 義大

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ものであり、下記の結果を得ている。

- 1、 まず、RT-PCR 法、及び、ウェ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 ががん精巣抗原であることが確認された。
- 2、 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。
- 3、 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。
- 4、 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。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。

- 5、 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、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
- 6、 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。

以上、ATMの機能亢進をもたらす腫瘍精巣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であるSYCE1のがん細胞での異所性発現によるDNA損傷応答の新たな制御機構を発見することが出来た。この研究による発見はこれからのがん治療に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。