

# 論文審査の結果の要旨

氏名 伊藤若菜

色素性乾皮症バリエーション群 (XP-V) は DNA ポリメラーゼ  $\eta$  (Pol $\eta$ ) に変異があるため、UV による DNA 損傷である CPD の損傷乗り越え複製 (TLS) ができず日光超過敏性を示し、高頻度に皮膚癌を発症する疾患である。Pol $\eta$  は自身の TLS ポリメラーゼ活性に加え、REV1 などの他の TLS ポリメラーゼと相互作用することが知られている。XP-V 患者で見られる紫外線感受性が Pol $\eta$  活性の欠如にのみ起因するのか、あるいは TLS ポリメラーゼ間のネットワークの破綻も関与しているのかどうかはまだ明らかではない。申請者は各種 TLS ポリメラーゼを欠損した細胞に 3 種類の異なる変異型 Pol $\eta$  を個別に発現させた細胞を樹立し、これらの細胞株の UV 感受性と突然変異率を解析することにより XP-V 患者で見られる UV 感受性における TLS ポリメラーゼネットワーク機能の解明を目指した。

これまでの研究で Pol $\eta$  欠損、Pol $\eta$ ・Pol $\iota$  二重欠損マウスが作成され、さらにこれらのマウスからマウス胚性線維芽細胞 (MEF) が樹立されている。これらの MEF に野生型及びタイプの異なる 3 種類の変異型 Pol $\eta$  (ポリメラーゼ活性に必須なアミノ酸残基 2 箇所に変異を導入した不活性型 Pol $\eta$ 、REV1 との相互作用に必須な 4 個のフェニルアラニンに変異を導入した REV1 非結合型 Pol $\eta$ 、この両変異を併せ持つ不活性型/REV1 非結合型 Pol $\eta$ ) を個別に発現させ、安定発現株の樹立に成功した。

これらの細胞株を用いてコロニー形成法を主として UV 照射後の生存率を調べた。その結果、Pol $\eta$  欠損及び Pol $\eta$ ・Pol $\iota$  二重欠損 MEF でみられた高い UV 感受性が野生型 Pol $\eta$ 、及び REV1 非結合型 Pol $\eta$  の発現により野生型 MEF 程度にまで回復した。また、不活性型 Pol $\eta$  を発現させると部分的に UV 感受性を回復するにも関わらず、不活性型/REV1 非結合型 Pol $\eta$  の発現では UV 感受性は回復しなかった。これらのことから、Pol $\eta$ -REV1 の相互作用は Pol $\eta$  に活性がある場合には UV 感受性回復に必要なが、Pol $\eta$  自身に活性がなく CPD を乗り越えられない場合、REV1 と相互作用することによって部分的に UV 感受性を回復させることが明らかとなった。また、Pol $\eta$  欠損 MEF と Pol $\eta$ ・Pol $\iota$  二重欠損 MEF ではその UV 感受性に大きな差がみられず、この不活性型 Pol $\eta$ -REV1 相互作用を介する TLS 経路は Pol $\iota$  に依存しないことも明らかにした。

次に、Pol $\eta$ ・Pol $\iota$ ・Pol $\kappa$  三重欠損 MEF に Pol $\eta$  欠損、Pol $\eta$ ・Pol $\iota$  二重欠損 MEF と同様に各種変異型 Pol $\eta$  を発現させ、UV 感受性を調べた。その結果、Pol $\kappa$  の非存在下では不活性型 Pol $\eta$  を発現させても Pol $\eta$ ・Pol $\iota$ ・Pol $\kappa$  三重欠損 MEF の UV 感受性は回復しなかった。

このことから、Pol $\eta$  欠損、Pol $\eta$ ・Pol $\iota$  二重欠損 MEF でみられた不活性型 Pol $\eta$  発現による部分的な UV 感受性の回復には Pol $\kappa$  が関与していることが明らかとなった。

さらに各種変異型 Pol $\eta$  の発現が UV により誘発される突然変異率を抑制するかを調べるため、

UV 照射後の突然変異率を ouabain 耐性 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase 遺伝子変異体の出現頻度により解析した。その結果、不活性型 Pol $\eta$  を発現により Pol $\eta$  欠損 MEF、及び Pol $\eta$ ・Pol $\iota$  二重欠損 MEF の変異率は上昇し、不活性型 Pol $\eta$ -REV1 相互作用で誘導される TLS 経路は突然変異率が高い、すなわち誤りがちな TLS であることが明らかとなった。また、Pol $\eta$ ・Pol $\iota$ ・Pol $\kappa$  三重欠損 MEF では発現させた変異型 Pol $\eta$  の種類によらず UV 照射後の変異率は上昇しなかったことから、Pol $\eta$  欠損時における突然変異率の上昇も Pol $\kappa$  が寄与していることが明らかとなった。

以上のことから、Pol $\eta$  が存在しても TLS ポリメラーゼ活性の欠如により CPD の TLS を行うことのできない場合には REV1 との相互作用を介して Pol $\kappa$  を損傷の場へと引き寄せ、誤りがちな TLS を行うことで細胞死という最悪の事態を回避する新たな TLS 機構を明らかにした。XP-V 患者では変異 TLS ポリメラーゼ活性を失う不活性型変異が複数報告されており、今回明らかにした新たな TLS 機構は不活性型変異による発癌機構の解明に重要な手がかりとなることが期待される。

なお、本論文の一部は、Yokoi M., Sakayoshi N., Sakurai Y., Akagi J., Mitani H., Hanaoka F. との共同研究で Genes to Cells 誌に公表済みであり、論文提出者が筆頭著者として主体となって解析、および検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

従って、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。

以上 1992 字