

氏名	野 島 邦 治
学位(専攻分野)	博士(医学)
学位記番号	医博第3005号
学位授与の日付	平成18年5月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	医学研究科脳統御医科学系専攻
学位論文題目	Multiple repair pathways mediate tolerance to chemotherapeutic cross-linking agents in vertebrate cells (動物細胞のDNA架橋剤の耐性には複数のDNA修復経路が関与する)
論文調査委員	(主査) 教授 藤 堂 剛 教授 丹 羽 太 貫 教授 小 松 賢 志

論 文 内 容 の 要 旨

シスプラチンをはじめとするDNA架橋薬剤は今日の癌化学療法で欠かせない薬剤である。シスプラチンは種々のDNA損傷をもたらすが、その中でも特にDNA鎖間架橋が最も殺細胞効果に寄与していると考えられている。酵母の変異株を用いた研究において、DNA鎖間架橋の修復経路の解析がなされてきておりヌクレオチド除去修復、Rad6/Rad18に依存した複製後修復、相同DNA組換え、およびチェックポイントに関わる遺伝子がDNA鎖間架橋の修復に働いていることが示されてきた。しかし動物細胞でのDNA鎖間架橋の修復についてはまだ十分に解析されていない。

ニワトリBリンパ細胞株であるDT40は動物細胞の中でも特にノックアウト細胞を作製しやすい特性を持っており、これまでに種々のDNA修復遺伝子やチェックポイント関連遺伝子のノックアウト細胞が樹立されている。

今回、DNA修復遺伝子やチェックポイント関連遺伝子のDT40変異株を用い、それらのシスプラチン感受性を測定することにより、動物細胞におけるDNA鎖間架橋の修復経路の解析を行った。また主な細胞株につきマイトマイシンC、メルファランに対する感受性を測定するとともにシスプラチン処理後の染色体断裂数の計測を行った。

その結果、遺伝子相同組換え、ファンconi貧血原因遺伝子、及び損傷乗り越え複製に関わる遺伝子の変異株が強いシスプラチン感受性を示し、特に後者は極めて強い感受性を示した。これらの変異株はマイトマイシンC、メルファランに対しても同様に強い感受性を示した。一方でヌクレオチド除去修復経路はDNA鎖間架橋の修復に大きな役割を果たしていないものと考えられた。またシスプラチン感受性とシスプラチン処理後の染色体断裂数はほぼ相関するものと考えられた。Rev3変異株が最も高いシスプラチン感受性を示し、FANCC変異株がそれに次ぐ感受性を示したため、それらにつきエピスタシス解析をおこなったところ、Rev3とFANCCはDNA鎖間架橋の修復において同一の経路に属するものと考えられた。これらのことから、動物細胞におけるDNA架橋剤に対する耐性にはDNA鎖間架橋部位における複製フォーク停止を解除する遺伝子が大きく関わっていることが示された。

以上の結果は動物細胞におけるDNA鎖間架橋の修復経路の解明に寄与するとともに、効果的な癌化学療法の開発につながるものと考えられた。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

シスプラチンをはじめとするDNA架橋薬剤は種々のDNA損傷をもたらすが、DNA鎖間架橋が最も殺細胞効果に寄与していると考えられている。酵母におけるDNA鎖間架橋の修復には、ヌクレオチド除去修復、ユビキチン酵素Rad6/Rad18依存性複製後修復、相同DNA組換え、チェックポイントなどの機構の関与が示されてきた。

今回、ニワトリBリンパ細胞株であるDT40を用い、DNA修復遺伝子やチェックポイント関連遺伝子のDT40変異株に対するシスプラチン、マイトマイシンC、メルファラン感受性を測定することにより、動物細胞レベルにおけるDNA鎖間架橋の修復経路の解析を行った。

その結果、相同 DNA 組換え関連遺伝子、ファンconi貧血原因遺伝子及び損傷乗り越え複製関連遺伝子の変異株において、強いシスプラチン感受性を示し、特に後 2 者は極めて強い感受性を示した。これらの変異株はマイトマイシン C、メルファラシに対しても同様に強い感受性を示した。一方でヌクレオチド除去修復経路は DNA 鎖間架橋の修復に大きな役割を果たしていないものと考えられた。この結果、動物細胞における DNA 架橋剤に対する耐性には DNA 鎖間架橋部位における DNA 複製フォーク停止を解除する遺伝子が大きく関わっていることが示された。

以上の研究は動物細胞における DNA 鎖間架橋の修復経路の解明に貢献し、効果的な癌化学療法の開発に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成18年2月17日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。