

氏名	チョウ 趙	コウ 光	ウ 宇
学位(専攻分野)	博士(医学)		
学位記番号	医博第3106号		
学位授与の日付	平成19年3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	医学研究科分子医学系専攻		
学位論文題目	Collaborative roles of gammaH2AX and the Rad51 paralog Xrcc3 in homologous recombinational repair. (H2AXのリン酸化はXRCC3と相補しながら相同組換えに関与している)		
論文調査委員	(主査) 教授 小松賢志	教授 丹羽太貫	教授 松本智裕

論 文 内 容 の 要 旨

H2AXはヒストンH2A亜系の一種で、二重鎖切断後速やかにリン酸化される。H2AX欠損マウスは、不妊、免疫異常、発癌性などの染色体の調節異常に由来すると考えられる多彩な症状を示す。しかしながら、H2AXがどのような細胞内代謝・DNA修復経路を調節してこれらの表現型をもたらしているかは不明である。今回、H2AX遺伝子座をジーンターゲットング法でリン酸化部位を欠損したH2AX(S139A)に置換して、リン酸化のみ起こらないような変異株を作製した。さらに、染色体不安定性を示す組換え欠損株 $\Delta xrc3$ とH2AX(S139A)の2重欠損株を作製し、DNA修復能・相同組換え機能・染色体安定性がどのように変化するかを調べた。

H2AX(S139A)株は軽度のチェックポイント異常を示し、抗がん剤カンプトテシンに高感受性を示した。さらに、放射線照射後のRad51フォーカスの出現が遅れ、遺伝子ターゲットングの頻度が低下した。これらの結果は、H2AXのリン酸化が相同組換えに関与していることを示唆した。相同組換え欠損株 $\Delta xrc3$ とH2AX(S139A)との2重欠損株は単離できなかったため、コンデシヨナル法で(H2AX(S139A)/ $\Delta xrc3$ +tetH2AX)を樹立した。テトラサイクリンの添加直後より、野生型のH2AXが減少し、3日後にはほとんど検出できなくなった。4日後には放射線を照射してもRad51フォーカスが全く誘導できず、6日後には、細胞増殖が停止し、その後、細胞は染色体断裂を呈して徐々に死亡した。

H2AXのリン酸化は相同組換えを促進することで、ゲノムの安定性に貢献している。特に組換えの補助因子であるXRCC3とはお互いに相補しながらRad51のDNA損傷部位への取り込みを促進している。このH2AXの機能は、 $\Delta xrc3$ のように相同組換え機能低下で様々なゲノムストレスが発生するような状況でより重要になってくると考えられた。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

H2AXは、DNA2重鎖切断後、速やかにリン酸化されるヒストン蛋白質である。H2AXノックアウトマウスは、不妊・免疫不全・放射線高感受性・発がん性などの染色体修復不全によると考えられる多彩な症状を呈する。しかしながら、これらの症候がどのような種類の修復異常によって引き起こされているのかよくわかっていなかった。本研究では、ニワトリDT40細胞を用い、H2AXリン酸化変異株(S139A)を作製し、そのDNA修復における役割を遺伝学的手法で解析した。

H2AXリン酸化変異株は、抗がん剤カンプトテシンに高感受性、組換え蛋白Rad51の集積異常、組換え頻度の低下など相同組換え修復に特異的に異常を示した。さらに、相同組換えの補助因子であるXRCC3との条件型2重変異株を作製し、これらの2重変異が致死となることを示した。この致死性は、Rad51フォーカスの欠損や重篤な染色体異常を呈することから、相同組換えの機能不全により引き起こされると考えられた。すなわち、H2AXのリン酸化とXRCC3はお互いに相補しながらRad51の集積を促進し、相同組換えを促進していることを初めて示した。

以上の研究は、H2AXのリン酸化は相同組換えを促進することで、ゲノムの安定性に貢献していることを明確に示した。これらの研究成果は、H2AX欠損マウスが示す不妊、免疫異常、発がん性などの染色体の調節異常に由来すると考えられ

る多彩な症状をうまく説明し、ならびに DNA 修復における H2AX 蛋白の機能の解明に寄与するところが多い。従って、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19年3月1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。