

京都大学	博士（ 医学 ）	氏 名	吉原 美奈子
論文題目	Genome-wide profiling of 8-oxoguanine reveals its association with spatial positioning in nucleus (8-オキソグアニンのゲノムワイドなプロファイリングによるその核内空間配置との関連の解明)		
（論文内容の要旨） 哺乳類では DNA の酸化的損傷が 100 種類以上知られている。中でも 8-oxoguanine (8-oxoG) は最も多く生成し、通常状態では 10^5-10^6 グアニンに 1 つ、つまり細胞 1 個あたり数千の 8-oxoG が存在している。8-oxoG は 2 つの経路で生成される。1 つはグアニンの直接酸化であり、もう 1 つはヌクレオチドプールで生成した 8-oxo-dGTP が複製時に取り込まれることによるものである。8-oxoG の存在下で DNA 複製が行われるとシトシンの代わりにアデニンが挿入されることがあり、結果として G>T transversion が発生する。酸化ストレスが病因に関連すると考えられる肺癌、乳癌、卵巣癌、胃癌、大腸癌等で、腫瘍組織の体細胞突然変異には G>T が高頻度に認められるため、8-oxoG の関連変異であることが示唆される。また、神経変性疾患や加齢に伴う障害においても 8-oxoG の多量蓄積との関連が報告されている。このように多岐に渡る疾患に関連が想定される 8-oxoG であるが、これまでの報告は定量のみであり詳細なゲノム全体の 8-oxoG の分布を示した報告はない。今回、8-oxoG を特異的に認識する抗体を用いた免疫沈降とラットゲノム全体をカバーするマイクロアレイを使用して、ラットの正常腎皮質組織におけるゲノム全体での 8-oxoG の分布を検討した。 全体に数 Mb 以上の 8-oxoG が豊富な領域が連なり、幅広い peak を示す傾向が見られた。これらの数 Mb の領域を観察すると 8-oxoG は gene desert で多く、gene-rich 領域では相対的に少ないことがわかった。1Mb 幅の平均 8-oxoG 量と同領域内の遺伝子数に関して負の相関($r = -0.47, p < 0.001$)を認めた。次に、遺伝子発現と 8-oxoG 量との関連を調べるためにマイクロアレイによる遺伝子発現の結果を高発現領域と低発現領域の 2 群に分け、8-oxoG の分布と比較したが遺伝子発現強度間での明らかな違いは見出せなかった。そこで、gene desert と gene-rich 領域がゲノムの空間的配置と関係することに注目し、chromosome territory (CT) に関連した解析を行った。CT では一般に gene-rich な領域は核の内側に gene-poor な領域は核の外側に配置するとされる。核膜の裏打ちタンパク質である lamin に隣接する lamina-associated domains (LADs)は、AT-rich な抑制性の染色体ドメインで gene-poor な領域である。8-oxoG と LADs について検討すると強い相関($p < 1.0 \times 10^{-10}$)を認めた。これは 8-oxoG が単純に GC 含量のみに依存するのではなく、ゲノム DNA の核内空間的配置が酸化修飾の存在頻度を規定していることを示唆する。その機構として、1 つは核周縁に存在する LADs は核外からの酸化ストレスを受けやすいこと、2 つ目は LADs で 8-oxoG の修復が行われないことが想定される。後者については少なくとも 2 つの可能性が考えられる。すなわち、LADs ではゲノム構造がコンパクトで修復酵素がアクセスしにくいこと、または損傷塩基の近傍に 2 つ以上の損傷が存在することで修復が起こりにくくなるクラスタードダメージが想定される為である。 核周縁のヘテロクロマチンが、中央に位置するユークロマチンを変異原から保護しているという bodyguard hypothesis が以前より提唱されてきたが、これを具体的に示した報告は今までなかった。グアニンは 4 種の塩基の中で最も酸化されやすい。今回の 8-oxoG が核周縁により豊富に分布するという新知見はこの bodyguard hypothesis をサポートする初めての報告である。			

（論文審査の結果の要旨） DNA の酸化的損傷である 8-oxoguanine (8-oxoG)を特異的に認識する抗体を用いた免疫沈降とラットゲノム全体をカバーするマイクロアレイを使用して、ラットの正常腎皮質組織におけるゲノム全体の 8-oxoG の分布を検討した。数 Mb の領域を観察すると 8-oxoG は gene desert で多く、gene-rich 領域では相対的に少ないことがわかった。1Mb 幅の平均 8-oxoG 量と同領域内の遺伝子数に関して負の相関を認めた。gene desert と gene-rich 領域がゲノムの空間的配置と関係することに注目し、chromosome territory (CT)に関連した解析を行った。CT では一般に gene-rich な領域は核の内側に gene-poor な領域は核の外側に配置するとされる。核膜の裏打ちタンパク質である lamin に隣接する lamina-associated domains (LADs)は、AT-rich な抑制性の染色体ドメインで gene-poor な領域である。8-oxoG と LADs について検討すると強い相関を認めた。これはゲノム DNA の核内空間的配置が酸化修飾の存在頻度を規定していることを示唆する。その機構として、核周縁に存在する LADs は核外からの酸化ストレスを受けやすいこと、ならびに LADs ではゲノム構造がコンパクトで修復酵素がアクセスしにくいことが想定される。			
以上の研究はゲノムの integrity の維持機構や発がん機構の解明に貢献し病理学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 26 年 8 月 18 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。			
要旨公開可能日： 年 月 日以降			