

氏 名	なかむら きょうこ 中 村 恭 子
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 3241 号
学位授与の日付	平 成 20 年 3 月 24 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	Genetic dissection of vertebrate 53BP1: A major role in non-homologous end joining of DNA double strand breaks (動物細胞 53BP1 の遺伝学的解析: DNA 二重鎖切断の非相同性末端結合にお ける主要な役割)
論文調査委員	(主 査) 教 授 小 松 賢 志 教 授 高 田 穰 教 授 松 本 智 裕

論 文 内 容 の 要 旨

電離放射線照射などに伴う DNA 損傷は、細胞死、突然変異、老化やガンなどの原因となりうるため、速やかに修復される必要がある。DNA 損傷が感知されると、細胞は損傷チェックポイントを活性化し、修復が完了するまで次の細胞周期に進まない。DNA 損傷が一定期間内に修復されないと、アポトーシスが誘導される。p53 は、損傷チェックポイントによって活性化される転写因子であり、細胞周期停止やアポトーシスを制御している。また、p53 は約半数のガンにおいて機能が不活性化されている事が知られている。

真核生物では DNA 二重鎖切断の修復経路は主に非相同性末端結合あるいは相同組換えによって修復される。非相同性末端結合ではまず Ku70/80 タンパク質が DNA 断端に結合する。次にキナーゼの一種である DNA-PK が Ku70 複合体部位に集合してヌクレアーゼであるをリン酸化によって活性化し、最終的に Ligase IV によって DNA 同士が結合する。相同組換えではまず MRN (Mre11/Rad50/Nbs1) 複合体のヌクレアーゼ活性によって DNA 二重鎖切断部位から ssDNA が形成される。ssDNA 部位に集合した切断 Rad51 が相同な配列を検索し、Rad54 等の分子によって組換え反応が進行する。

53BP1 (p53 結合タンパク質 1) は、p53 と結合して安定化に関わっているタンパク質として、同定された。53BP1 は、BRCT ドメインを持ち、DNA 二重鎖切断部位に速やかに集合するタンパク質であることから DNA 損傷応答に関わっている可能性がある。53BP1 欠損細胞は、チェックポイントの異常や電離放射線に感受性を示すことが報告されているが、DNA 二重鎖切断修復に対する 53BP1 の役割は不明である。

53BP1 の DNA 損傷修復における役割を解析する為、53BP1 欠損 DT40 (ニワトリ B リンパ細胞株) を作製した。哺乳類細胞での報告と同様に 53BP1 欠損 DT40 細胞は電離放射線に対して高感受性であった。しかしながら、哺乳類細胞では 53BP1 欠損細胞はチェックポイントの異常があるのに対して、53BP1 欠損 DT40 細胞は Intra-S 及び G2/M 期チェックポイントが正常であった。53BP1 欠損 DT40 細胞は G1 期特異的に電離放射線に高感受性であったことや、トポイソメラーゼ II 阻害剤に対して感受性を示したことから、非相同性末端結合経路に異常があることが示唆された。そこで非相同性末端結合に関わっている Ku70 あるいは Artemis と 53BP1 の二重欠損株、さらに相同組換えに関わっている Rad54 と 53BP1 の二重欠損株を作製し、電離放射線に対する感受性を調べた。すると Ku70、53BP1 二重欠損株は Ku70 欠損株と同じ感受性を、また Artemis、53BP1 の二重欠損株も Artemis 欠損株と同じ感受性を示した。一方 Rad54、53BP1 二重欠損株は Rad54 あるいは 53BP1 欠損株よりも高い感受性を示した。これらの結果は 53BP1 が Ku70 や Artemis と同経路によって DNA 損傷修復に関わっている事を示す。以上の遺伝学的解析により、53BP1 は非相同性末端結合の経路によって DNA 二重鎖切断を修復することが明らかとなった。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

p53 結合タンパク質 1 (53BP1) はダメージチェックポイントに関わっているタンパク質として認識されており、53BP1

欠損マウスでみられる発ガンや放射線感受性はダメージチェックポイントの異常によるものだと考えられてきた。

本研究で 53BP1 はダメージチェックポイントだけではなく、DNA 二重鎖切断を非相同性末端結合によって修復する機構にも関与している事が示された。それを裏付ける事実として、他の非相同性末端結合欠損細胞と同様に、非同調細胞での低線量放射線感受性、G1 期での放射線感受性、Topoisomerase I 阻害剤に対する抵抗性、Topoisomerase II 阻害剤に対する感受性、遺伝子標的組み換え率の上昇が示された。また、非相同性末端結合に関与する Artemis や Ku70 と 53BP1 の二重欠損株、さらに相同組み換えに関する Rad54 と 53BP1 の二重欠損株の解析より、53BP1 が相同組み換えではなく非相同性末端結合の Ku70 や Artemis と同経路で DNA 損傷修復に関わっている事が遺伝学的に明確に証明された。

以上の研究は 53BP1 の DNA 損傷修復における役割の解明に貢献し、ガン治療やガンの発生の研究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みとめる。

なお、本学位授与申請者は、平成 20 年 2 月 18 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格とみとめられたものである。