

氏 名	みず たに あ き 水 谷 亜 紀
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2808 号
学位授与の日付	平 成 17 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 内 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Extensive Chromosomal Breaks Are Induced by Tamoxifen and Estrogen in DNA Repair-Deficient Cells (DNA 修復欠損細胞では多数の染色体断裂がタモキシフェンとエストロゲンによって誘導される)
論文調査委員	(主 査) 教 授 小 松 賢 志 教 授 藤 堂 剛 教 授 松 本 智 裕

論 文 内 容 の 要 旨

抗エストロゲン剤であるタモキシフェン (TAM) は乳癌の治療や高リスク患者の予防等に広く使用されている。しかし同時に子宮体癌のリスクを上昇させることが知られており、TAM を投与された患者やラットでは DNA 損傷が検出されている。また、エストロゲン (E2) は乳癌、子宮癌、卵巣癌、前立腺癌などの発癌に関与しており、TAM と同様に DNA 損傷を生じることが知られている。しかし、TAM や E2 は様々な原因で細胞増殖に影響を及ぼすため、野生型細胞を用いた実験ではその DNA 毒性を特異的に評価することは困難である。そこで我々は、様々な DNA 修復経路が欠損したニワトリ DT40 細胞を用いて TAM、E2 及びこれらの代謝産物が細胞に及ぼす影響を解析した。

その結果、損傷乗り越え DNA 複製に関与する RAD18 欠損細胞が TAM とその代謝産物に高感受性を示す事を見出した。DNA に生じた損傷が修復される前に複製フォークが損傷部位に遭遇すると、複製フォークの進行が阻害され染色体の断裂が生じて細胞は死に至る。損傷乗り越え DNA 複製はこれを回避する手段の一つであり忠実度の低い複製酵素によってバイパス合成を行う。また、TAM 処理を行った RAD18 欠損細胞は細胞周期の G2 期に集積した。従って、RAD18 欠損細胞では TAM による DNA 損傷が修復されず、DNA 損傷チェックポイントが活性化されて細胞が G2 期に集積し、細胞増殖が抑制されたと考えられる。さらに様々な DNA 修復欠損細胞の TAM への感受性を調べた結果、REV3、POLK 欠損細胞が TAM とその代謝産物に高感受性を示した。RAD18、REV3、POLK 欠損細胞では TAM 処理によって染色体断裂が多数誘導された。また、これらの細胞は E2 の代謝産物である 4-OHE2 にも感受性を示し、薬剤処理によって染色体断裂が多数誘導された。薬剤処理による細胞増殖抑制の程度と誘導された染色体断裂の数が相関していることから、染色体断裂が RAD18、REV3、POLK 欠損細胞における増殖抑制の直接の原因であると考えられる。

以上の結果から、TAM や E2 により生じる DNA 損傷は Rad18、Rev3、PolK が関与する損傷乗り越え DNA 複製により克服されることが明らかとなった。DNA 複製フォークの停止が染色体断裂を誘導する可能性があることと、損傷乗り越え DNA 複製で働く忠実度の低い DNA ポリメラーゼによって突然変異が誘発される可能性があることが、TAM や E2 による発癌メカニズムとして予想される。DNA 修復欠損細胞を用いた解析は、他の薬剤の発癌性を調べる上でも有用と考えられる。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究では、DNA 損傷欠損細胞においてはタモキシフェンとエストロゲンによって多数の染色体断裂が生じることが実験的に示された。様々な DNA 修復経路が欠損した DT40 細胞にタモキシフェン、エストロゲン及びこれらの代謝産物が投与され、その影響が解析された。その結果、野生型細胞に比べて損傷乗り越え DNA 複製に関与する Rad18、Rev3、Polk 欠損細胞がタモキシフェンとその代謝産物、さらにエストロゲンの代謝産物である 4-hydroxyestradiol に感受性を示し、これらの細胞では薬剤処理によって多数の染色体断裂が誘導された。また、Rad18 欠損細胞はこれらの薬剤に曝露される

と細胞周期の G2 期に集積した。よってタモキシフェンとエストロゲンにより生じる DNA 損傷は Rad18, Rev3, Pol α が関与する損傷乗り越え DNA 複製により克服されることが明らかになり、突然変異が誘発される可能性のある損傷乗り越え DNA 複製ポリメラーゼの使用または染色体断裂がこれらの薬剤による発癌メカニズムの一つであることが示唆された。

以上の研究は、タモキシフェンとエストロゲンによる発癌メカニズムの解明に大きく貢献し、発癌性のない薬剤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16年12月15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。