

氏 名	チョウ 趙 光 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リ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、遺伝子ターゲットリ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、コンデシショナル法で (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。