

AIDによる免疫グロブリン遺伝子組換えにおいて APE1 は DNA 切断に必須ではなく、DNA 末端修復に関わる（論文内容の要旨）

医学研究科、本庶 佑（ほんじょ たすく）客員教授、Jiangliang Xu（徐 建梁）研究員、小林 牧（こばやし まき）准教授の研究グループは、AID による免疫グロブリン遺伝子組換えにおいて、多様な機能を持つ酵素 APE1 が DNA 切断後の DNA 末端修復に働く機構を明らかにしました。この研究成果は、米国科学アカデミー紀要（Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America）で発表されました。

背景と目的

Activation-induced cytidine deaminase (AID)は免疫グロブリン (Ig) 遺伝子のクラススイッチ組換え (Class Switch Recombination, CSR)と体細胞突然変異 (Somatic Hypermutation, SHM)には必須の分子であり、DNA 切断と切断端の修復という 2つの異なる機能を発揮する。しかしながら AID にはシチジン脱アミノ活性があるのみで、直接 DNA 切断や修復を行うものではなく、DNA 切断から修復に至るまでの一連の分子メカニズムは明らかではない。AID が DNA 中のシチジンあるいは RNA 中のシチジンを編集するのか、両仮説があるが、DNA シチジン編集仮説では編集されて生じるウリジンを UNG が除き、その結果無塩基となった DNA 一本鎖を APE1 が切断すると考えられていた。APE1 欠損細胞で実際 CSR の効率は野生型の 25%ほどに低下しているが、DNA 切断は起きているのか、他の AID 依存性の現象である SHM に影響はあるのかについては未解決であった。そこで、我々は APE1 の免疫グロブリン遺伝子の多様性獲得における機能を検討した。

方法と結果

まず、APE1 欠損細胞株に APE1 の各種変異体を導入したところ、APE1 のエンド/エクソヌクレアーゼ変異体はやはり CSR の効率が低く、酵素活性が重要であることがわかった。ところが、AID による SHM と、cMyc 遺伝子と免疫グロブリン遺伝子間の染色体転座は APE1 の有無に関わらず同じ頻度で認められ、AID による DNA 切断は APE1 に依存性ではないことがわかった。また、CSR で組換えを起こす二つの S 領域の接近 (DNA シナプス形成) を検出する 3D 解析により、APE1 欠損株では DNA シナプス形成が損なわれていた。また、DNA シナプス形成時に DNA 末端に集積する Ku80 は APE1 欠損株では S 領域への集積が弱く、DNA シナプス形成が APE1 細胞株で弱いことが示された。ところで AID は Top1 を制御して一本鎖切断を多重に起こすことから、DNA の二本鎖は 2 本の切断端が不揃いになる。今回の結果から、APE1 のエンド・エクソヌクレアーゼ活性は DNA 末端を一本鎖切断の重なった片方突出型の二本鎖切断から削り込み (平滑化)、CSR に有利な DNA 末端処理に働くと考えられた。実際、APE1 以外の、DNA 末端を平滑化する MRE11 や CtIP といった酵素を APE1 欠損細胞株でノックダウンすると、残存した CSR 効率がさらに低下しており、APE1 は他の酵素と重複した機能を持つものの、トポイソメラーゼ 1 が DNA を切断した後の片方突出型の DNA 断端を処理する主な酵素であると考えられた。中枢神経系では TDP1 が同様にトポイソメラーゼ 1 による DNA 切断後の処理に働くが、TDP1 は B リンパ球ではその機能は重要でないと考えられた。

本研究の意義

以上の結果を総合すると、APE1 は DNA 編集仮説で考えられていた

ような、DNA の無塩基部分を切断するのではなく、DNA 末端の平滑化と synapse 形成において必須の機能を担うことが明らかとなり、AID の作用機序は DNA 編集ではなく RNA 編集によるものであることが一層強く示された。APE 1 はがんや心血管疾患、神経変性疾患など多様な疾患に関わり、APE 1 に対する薬剤が開発されれば治療面への応用が期待される分子であるが、その複雑な分子機能には未知の部分が多い。今回の研究は、APE1 のヌクレアーゼ活性が抗体多様化のメカニズムに必須であることを初めて示したもので、APE1 の分子機能の理解に大きく貢献するものである。

本成果は、以下の研究費によって得られた。

文科省・科学研究費補助金 特別推進研究 22000015

研究代表者 本庶 佑

研究機関 2010年4月～現在

および基盤研究 (C) 25440007

研究代表者 小林 牧

研究期間 2013年4月～現在