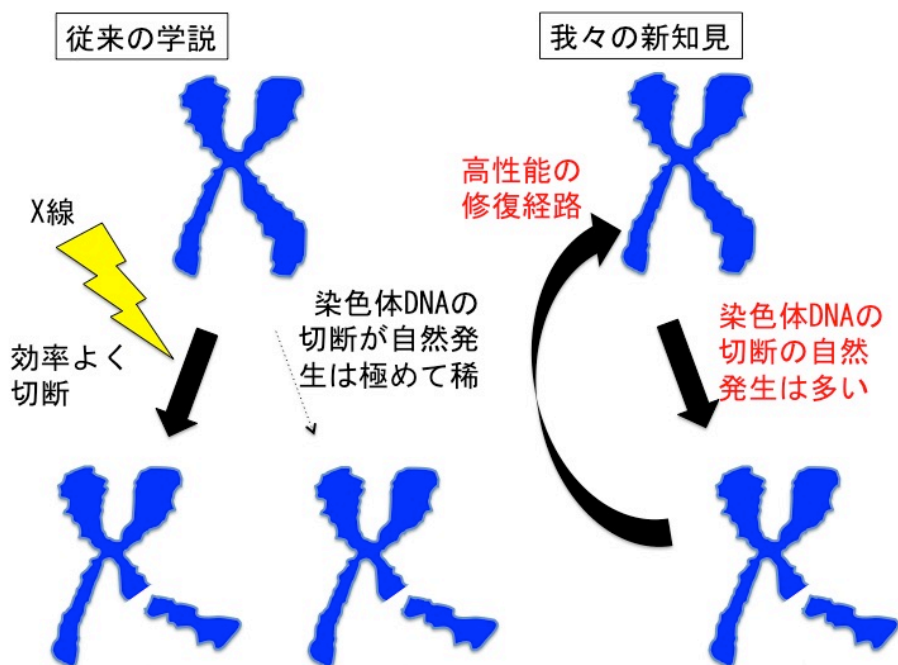


# 染色体 DNA の断裂が自然発生する分子機構と断裂を修復する分子機構の解明 —細胞で染色体 DNA の断裂は大量に自然発生する—

## 概要

染色体 DNA の損傷は、変異にしばしば変換され、最終的には発がんの原因となります。損傷のなかで最も発がん性の強いものは、DNA 2 重鎖切断です。武田 俊一 京都大学大学院医学研究科教授、笹沼 博之 同准教授らは、身体の中かの神経細胞を含む多くの細胞で日常的に DNA 2 重鎖切断が発生していることを証明しました。これは発がんの原因になる病的な DNA 2 重鎖切断が、放射線被曝していなくてもすべての細胞で毎日複数個起こっていることを意味します。加えて、論文では病的な DNA 2 重鎖切断の原因と、その切断を効率よく修復している分子メカニズムについても論じています。本成果は 11 月 4 日午前 1 時に、Cell 社の学術誌 *Molecular Cell* に掲載されました。



## 1. 背景

2015年のノーベル化学賞の受賞者の1人、Thomas Lindahl 博士は、従来細胞のなかで非常に安定と考えられてきた染色体 DNA に、多様な損傷（DNA を構成している化合物に酸化、加水分解などの異常な化学反応がおこること）が大量に生じることを発見しました。染色体 DNA が一見非常に安定に見えたのは、大量の損傷がたくさんの種類の酵素によって正確に修復されているからでした。Thomas Lindahl 博士はノーベル化学賞を同時受賞した研究者とともに DNA 修復酵素を初めて同定しました。

DNA 損傷は、稀に不正確に修復され変異に変換されます。また、変異の蓄積は発がんの原因になります。DNA 損傷のなかで最も細胞毒性が高くかつ発がん性の高いものが DNA の 2 重鎖切断です。X 放射線は、がん治療に使われるように殺細胞作用が非常に強く、かつ発がん性も高いことが知られています。これらの作用は、X 放射線が非常に効率よく DNA 2 重鎖切断を作ることからもたらされます。DNA 2 重鎖切断は、正確にすぐに修復されないと、染色体転座や長い染色体 DNA 領域の欠損、及び染色体ロスの原因となります（図 1）。

従来、変異の原因になるような病的な DNA 2 重鎖切断が自然発生することは、特に増殖しない細胞（例、神経細胞、肝細胞）では、非常に少ないとされてきました。本研究は、病的な DNA 2 重鎖切断が増殖しない細胞でも大量に発生していることを解明しています。本研究で明らかになった病的な DNA 2 重鎖切断は、iPS 細胞などを培養している時にも自然発生し、この DNA 2 重鎖切断は効率よく修復されないと細胞が死滅してしまうほど大量に発生しています。

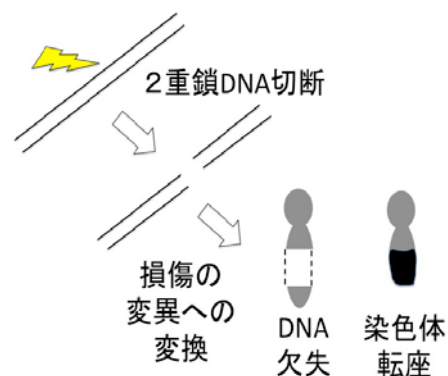


図 1 放射線照射によって発生する染色体 DNA の 2 重鎖切断は、長い領域の染色体 DNA の欠失や染色体転座の原因になる。

## 2. 研究手法・成果

Thomas Lindahl 博士は、DNA 修復という概念を提唱し、実際に DNA 修復酵素を複数種類同定し、そして大量の損傷が染色体 DNA にふだんから生じていることを証明しました。我々は、Mre11 と呼ばれる DNA 切断酵素をコードする遺伝子が試薬を添加したときだけ人工的に欠損されるヒト細胞（条件変異細胞と呼ぶ）を作成しました。そして Mre11 酵素を無くすと、DNA 2 重鎖切断が自然発生し、その切断が原因で細胞が死ぬことを証明しました。この知見から、(i) 普段から細胞に DNA 2 重鎖切断が自然発生することと、(ii) その DNA 2 重鎖切断を Mre11 酵素が効率よく修復している、(iii) 効率よく修復されていたが故に、これまで DNA 2 重鎖切断が自然発生することが未解明であった、と結論づけました。

では、どんな原因で DNA 2 重鎖切断が自然発生するのでしょうか？研究グループでは、トポイソメラーゼ 2 と呼ばれる酵素に焦点を絞って解析を進めました。染色体 DNA は全長 2 メートルであり、それが数ミクロンの細胞核のなかにパックされています。トポイソメラーゼ 2 は、2 本の 2 重鎖 DNA のからまりを解消する機能（図 2）があり、各細胞あたり毎日数十万回以上のからまりを解消する化学反応を触媒しています。この触媒反応は、遺伝子の転写、DNA の複製、複製された 2 本の 2 重鎖 DNA を分けることにそれぞれ必須な反応です。からまりを解消する時に、トポイソメラーゼ 2 は、一方の 2 重鎖 DNA を切断

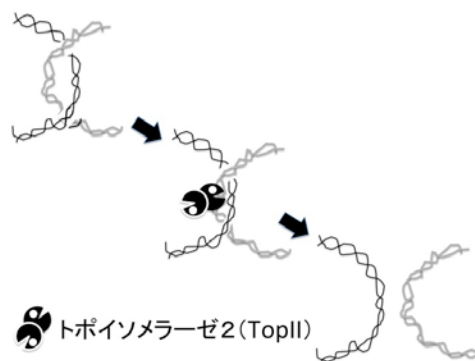


図 2 トポイソメラーゼ 2 はからまった 2 本の 2 重鎖 DNA をほどこく作用がある。ほどこく時に一方の 2 重鎖 DNA を一過性に切断する。

し (図3, ②)、もう一方の2重鎖DNAが切断部位をすり抜けた後に切断を再結合します (図3, ③)。2重鎖DNAを切断するときに、トポイソメラーゼ2はDNA切断5'端に瞬間的に共有結合します (図3, ②)。酵素は、精密機械 (例、半導体や腕時計) の正確な機能に比べると、触媒反応の正確さがはるかに劣り、稀ですが触媒反応中に間違いを起こすことがあります (図3, 異常な反応)。研究では、すべての正常細胞において、トポイソメラーゼ2が触媒反応中の間違い、すなわちDNA切断5'端に共有結合した後に再結合が起らなくなりました (図3, ②' の段階で触媒反応停止) この結果、病的なDNA2重鎖切断が自然発生するという仮説を立てました。

研究ではで上記の、Mre11条件変異ヒト細胞を創りました。そしてMre11酵素を無くすと、大量のDNA2重鎖切断が自然発生し、自然発生した切断5'端にトポイソメラーゼ2が安定に共有結合する (図3, ②' に相当) という2点を明らかにしました。これらの知見から、Mre11酵素が修復しているDNA2重鎖切断の発生原因は、トポイソメラーゼ2が触媒反応

中に間違いをおかす (図3, 異常な反応に相当) からだと結論づけました。トポイソメラーゼ2が2本の2重鎖DNAのからまりをほどくのに各細胞あたり毎日数十万回以上2重鎖DNAを切断していることを考慮すると、触媒反応中の間違いの率が数万分の一であっても、毎日複数個の病的DNA2重鎖切断が各細胞に発生してしまいます。Mre11酵素が機能しないと、マウスの脳でもトポイソメラーゼ2が安定に共有結合したDNA2重鎖切断 (図3, ②' に相当) が蓄積すると考えられます。したがって身体の中での様々な細胞において、トポイソメラーゼ2の触媒反応中の間違いが原因によって、染色体DNAが恒常的に断裂しているのです。

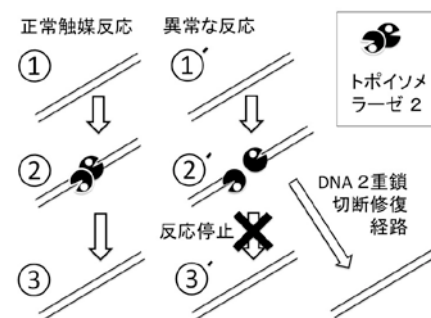


図3 トポイソメラーゼ2が2重鎖DNAを一過性に切断する時に、切断端5' DNA末端に共有結合する。トポイソメラーゼ2がこのDNA切断を再結合することに稀に失敗する。すなわち②'で触媒反応が停止することがある。このように触媒反応中に間違いを起こすと、染色体DNAの2重鎖切断がおこる (②')。この切断したDNAを再結合するには、Mre11などの修復酵素が必要である。

### 3. 波及効果、今後の予定

iPS細胞を治療に応用するとき、iPS細胞を培養中に変異が蓄積するという問題がありました。我々の研究から発がん効果の強い変異の発生原因、すなわち2重鎖DNA切断の自然発生の原因 (トポイソメラーゼ2の触媒反応中の間違い) と、その変異蓄積を抑制している分子機構、すなわちMre11酵素の機能が解明できました。Mre11酵素が関与するDNA2重鎖切断修復経路の機能が不十分だと、切断が正確かつすぐに修復できず、染色体転座や長い染色体DNA領域の欠損、染色体ロスの原因になります (図1)。iPS細胞を培養中に変異を蓄積する主要な分子機構も、そのかなりの部分を上記のメカニズムで説明できると考えています。

### 4. 研究プロジェクトについて

基盤S 分担 (代表: 武田俊一) 『遺伝子破壊細胞を使った、化学物質の生物効果をハイスループットに解析するシステム』

若手B (2014-2015) 代表 課題名 『遺伝学とプロテオーム解析を組み合わせたDNA損傷応答の新規制御機構の解明』

<論文タイトルと著者>

タイトル : Mre11 is essential for the removal of lethal Topoisomerase 2 covalent cleavage complexes

著者 : Nguyen Ngoc Hoa, Tsubasa Shimizu, Zhong Wei Zhou, Zhao-Qi Wang, Rajashree A. Deshpande,  
Tanya T. Paull, Salma Akter, Masataka Tsuda, Ryohei Furuta, Ken Tsusui, Shunichi Takeda,  
Hiroyuki Sasanuma

掲載誌 : *Molecular Cell*