

プレスリリース

本プレスリリースはカラー版となっております。メールでカラー版をお送りしますのでご希望の方はご連絡ください。連絡先：snakada@z3.keio.jp

解禁時間

(テレビ、ラジオ、WEB)：平成22年8月19日(木)午前2時
(新聞)：平成22年8月19日(木)付朝刊



慶應義塾大学

2010年8月17日

報道関係者各位

慶應義塾大学医学部

DNA 修復を制御する新しい遺伝子を発見 - 癌、放射線高感受性遺伝性疾患⁽¹⁾の治療法開発への手がかり -

慶應義塾大学 若手研究者の自立的な研究環境整備促進事業：「細胞と代謝」の基盤研究を担う若手育成（慶應・咸臨丸プロジェクト）⁽²⁾の中田慎一郎 医学部特別研究講師らは、産業技術総合研究所 バイオメディシナル情報研究センター 細胞システム制御解析チーム（夏目徹チームリーダー）とカナダ、トロントの Samuel Lunenfeld Research Institute, Mount Sinai Hospital (Dr. Daniel Durocher) との共同研究により、傷ついた DNA を修復するためのしくみである DNA 損傷応答を制御する新しい遺伝子として、脱ユビキチン化酵素 OTUB1 を発見し、その機能を解明しました。

発癌の原因として DNA 配列の変異が知られています。DNA 損傷は DNA 変異の主要な原因となります。DNA 損傷が起こると、緻密に制御された分子機構（DNA 損傷応答）により、細胞は様々な活動を停止した上で DNA 損傷を修復し、遺伝子情報を維持します。DNA 二本鎖損傷周辺⁽³⁾では、ユビキチンという低分子量の蛋白が鎖状につながった「ユビキチン鎖⁽⁴⁾」が形成され、DNA 損傷応答を活性化しています。一方、DNA 損傷が存在しないときにユビキチン鎖が形成されてしまうと、通常の細胞活動に不利となるため、通常ではユビキチン鎖の形成は抑制されています。しかし、この抑制のメカニズムはこれまで解明されていませんでした。

本研究において、我々は、「脱ユビキチン化酵素 OTUB1 が DNA 損傷依存性におこるユビキチン鎖の形成を抑制的に制御している」ということを発見し、これまでの謎を解明しました。OTUB1 は UBC13 という E2 ユビキチン結合酵素に結合してユビキチン鎖形成を抑制し、DNA 損傷応答の不適切な活性化を防いでいる、と考えられます。OTUB1 の発現調節により、DNA 損傷応答をより活性化したり、抑制したりできることから、本研究の成果は、DNA 損傷応答が減弱している放射線高感受性遺伝性疾患の治療法や DNA 損傷応答を利用した新たな癌治療法の開発への手がかりとなることが期待できます。

また、重要な翻訳後修飾⁽⁵⁾である「ユビキチン化」が脱ユビキチン化酵素と E2 ユビキチン結合酵素との結合により制御されている、という分子機構の発見は、医学・生物学分野の研究に大きな影響をもたらすと考えられます。

本研究成果は、英国科学雑誌“Nature”2010年8月19日号に Article として発表されます。この発表に関する報道解禁は、新聞については日本時間8月19日(木曜日)朝刊以降、新聞web版と放送は8月19日(木曜日)午前2時以降としますので、本情報の取り扱いにご留意いただきますようお願いいたします。

1. 背景

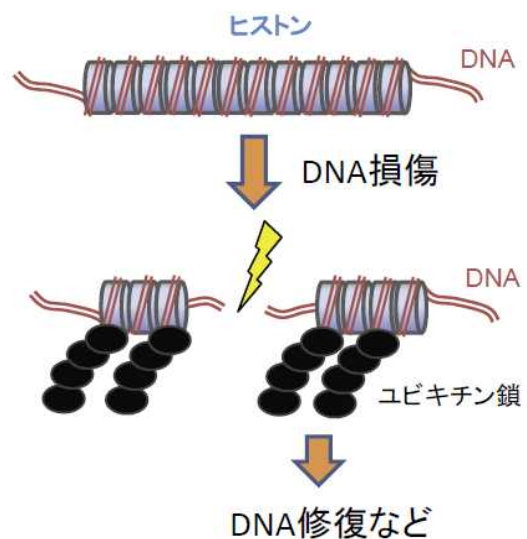
細胞の活動は遺伝情報に基づいて産生されるタンパクによって制御されているので、生命現象は「DNA 配列」という形で記録された遺伝子に支配されているということが出来ます。DNA 配列が変

異したり、消失したりしてしまうと、変異したタンパクが産生されたり、必要なタンパクが産生されなくなることがあります。その結果、正常な細胞活動に影響が生じてくることとなります。ですから、細胞は正常な細胞活動 / 生命活動のために遺伝情報を維持しなくてはなりません。

細胞には日常的に DNA 損傷が発生しており、遺伝情報は常に危機にさらされています。たとえば、紫外線や自然放射線への暴露といった外的刺激によっても DNA は損傷しますし、細胞内で生じる活性酸素や、DNA 複製、DNA recombination などの細胞活動によっても DNA は損傷してしまいます。細胞には、DNA 損傷が生じた際にそれを適切に処理する「DNA 損傷応答」という機構が存在します。DNA が損傷すると、細胞分裂、DNA 複製、転写などの細胞活動が停止し、その間に DNA 損傷が修復されます。DNA 損傷が修復できないほどひどい場合には、細胞死が誘導され、DNA 変異がおりやすい（癌化しやすい）細胞を個体から排除する仕組みになっています。

DNA 損傷応答も、他の細胞活動と同じように遺伝子情報により支配されており、DNA 損傷応答に関連する遺伝子がいくつも発見されています。また、DNA 損傷応答に関連した遺伝子の変異は、放射線（あるいは DNA 傷害性薬剤、紫外線）高感受性遺伝性疾患の原因になるということが明らかにされています。これらの疾患では、高発癌性が深刻な症状のひとつとなっています。DNA 損傷応答に関連した遺伝子の変異によって発癌しやすくなるということは、言い換えれば、DNA 損傷応答は、発癌の防止に重要だということになります。このことから、発癌機構を理解して、新たな癌予防法や癌治療法の開発に結びつけるという点で、DNA 損傷応答の研究は世界的に注目されています。

DNA は、細胞核のなかで「ヒストン」というタンパク質に絡みついた状態で存在します。最近の研究により、DNA の関連する生命現象においてヒストンの翻訳後修飾がきわめて重要だということがわかってきました。DNA 損傷応答ではヒストンへのユビキチン鎖の付加が必要となります。ユビキチン鎖は分解されるべきタンパクの目印としてよく知られています（2004 年ノーベル賞）が、DNA 損傷応答において形成されるユビキチン鎖は、分解の目印として使われるユビキチン鎖とは立体構造が異なっており、DNA 損傷の場所を示す目印となっています。一方、DNA 損傷が起こっていないとき、あるいは DNA 損傷が修復された後にもユビキチン鎖の形成が続いてしまうと、細胞は DNA の損傷が続いていると誤認し、正常な細胞の活動が妨げられてしまいます。しかし、DNA 損傷が存在しないときにユビキチン鎖の形成を抑制するメカニズムは、これまで解明されていませんでした。



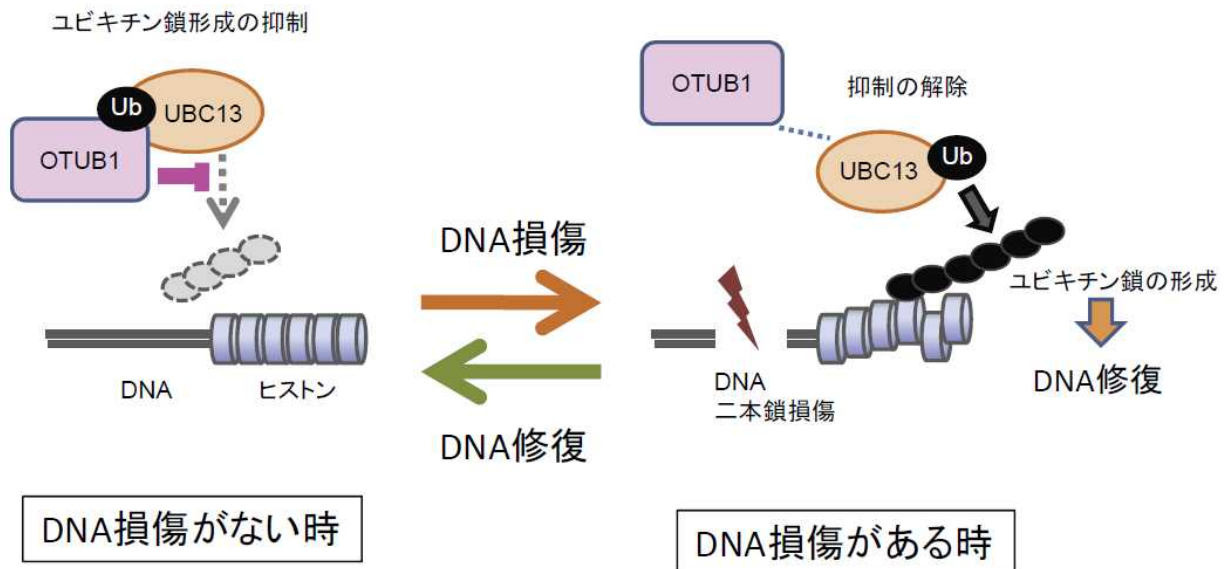
2. 研究内容の要約

ヒストンユビキチン化を抑制するタンパクをコードする遺伝子の発見のために、我々は RNA 干渉による遺伝子サイレンシング法（2006 年ノーベル賞）を用いたスクリーニング⁽⁶⁾を行い、OTUB1 がその遺伝子の一つであることを発見しました。OTUB1 は脱ユビキチン化酵素として知られていましたので、我々は、「OTUB1 がヒストンに付加されたユビキチン鎖を切断している（脱ユビキチン化している）」と予想しました。しかし、細胞生物学 / 分子生物学実験の結果は、「OTUB1 は DNA 損傷部位で形成されるユビキチン鎖を切断しておらず、むしろユビキチン鎖の形成そのものを抑制している」ということを示唆していました。

そこで、産業技術総合研究所 バイオメディシナル情報研究センター 細胞システム制御解析チーム（夏目徹チームリーダー）において、同チームが開発した世界最高性能の超高感度質量分析システム⁽⁷⁾（2002 年ノーベル賞）を用いて OTUB1 の結合因子を分析し、OTUB1 の結合因子としていくつかの E2 ユビキチン結合酵素を検出しました。その中には DNA 損傷応答において

ユビキチン鎖の形成を担っている E2 ユビキチン結合酵素 UBC13 が含まれていました。このデータを基に、我々は細胞内での結合実験、試験管内での生化学実験を行い、OTUB1 は UBC13 と結合することで UBC13 依存性に起こるユビキチン鎖の形成を抑制しているということ突き止めました。脱ユビキチン化酵素が E2 ユビキチン結合酵素と結合することで、脱ユビキチン活性非依存性にユビキチン化反応を制御するという分子機構は、これまでに知られていなかった新しいユビキチン化制御機構です。

DNA 損傷応答は、最初期に ATM (放射線高感受性遺伝性疾患の一つである毛細血管拡張性運動失調症の責任遺伝子) により活性化されます。この ATM を薬剤的に抑制した細胞では相同組み換え修復という DNA 修復機構が減弱することが知られています。ATM を抑制した細胞において OTUB1 の発現を抑制し、ユビキチン鎖が形成されやすくと、ヒストンユビキチン化以降の DNA 損傷応答が活性化して、相同組み換え修復が正常レベルに近く回復しました。一方、OTUB1 を過剰に発現させた場合には、相同組み換えは抑制されました。これらの実験データは、OTUB1 が DNA 損傷修復を調節していることを示しています。



3. 今後の展望

理論的な仮説ですが、OTUB1 の発現を抑制したり、OTUB1 と UBC13 との結合を阻害したりすることで、放射線高感受性遺伝性疾患において減弱している DNA 損傷応答を回復させる (放射線への感受性を下げる) ことができるかもしれません。また、OTUB1 の機能抑制と化学療法や放射線療法を組み合わせることで、抗腫瘍薬や放射線により活性化される DNA 損傷応答を増強し、癌細胞を細胞死へと強力に誘導できるようになる可能性があります。今後、基礎研究を積み重ね、これらの仮説の検討と OTUB1 をターゲットとした薬剤開発の可能性を研究していく予定です。

4. 論文について

タイトル: "Non-canonical inhibition of DNA damage-dependent ubiquitination by OTUB1"

(邦題: 「OTUB1 による DNA 損傷依存性ユビキチン化反応の非古典的抑制機構」)

著者: Shinichiro Nakada*, Ikue Tai, Stephanie Panier, Abdallah Al-Hakim, Shun-ichiro Iemura, Yu-Chi Juang, Lara O'Donnell, Ayako Kumakubo, Meagan Munro, Frank Sicheri, Anne-Claude Gingras, Tohru Natsume, Toshio Suda & Daniel Durocher*

(*は責任著者。下線は慶應義塾大学所属の著者。)

本研究成果は英国科学雑誌 "Nature" 2010 年 8 月 19 日号で発表されます。

5. 本研究への支援

本共同研究のうち、慶應義塾大学で行われた研究は下記機関より資金的支援を受けて実施されました。

1. 文部科学省 科学技術振興調整費「若手研究者の自立的な研究環境整備促進」事業
2. 文部科学省 科学研究費補助金 研究活動スタート支援 (21870033)
3. 財団法人 武田科学振興財団 「医学系研究奨励(基礎)」
4. 財団法人 先進医薬研究振興財団 血液医学分野 萌芽研究助成
5. 大和日英基金 The Daiwa Anglo-Japanese Foundation 奨励助成



The Daiwa
Anglo-Japanese
Foundation

<用語説明>

(1) 放射線高感受性遺伝性疾患

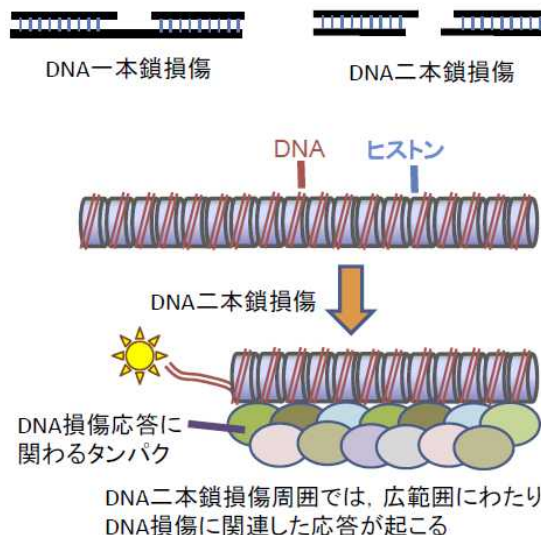
主に、DNA 損傷応答を担うタンパク質をコードする遺伝子の変異が原因となる遺伝性疾患。遺伝子変異がない場合と比べ、放射線照射による DNA 損傷への抵抗性が低い。放射線以外にも、DNA 傷害性薬剤や紫外線に高感受性を示す疾患もある。これらの疾患では、高発がんや免疫不全、早老症などを示すことが多い。

(2) 「細胞と代謝」の基盤研究を担う若手育成(慶應・咸臨丸プロジェクト)

慶應義塾大学が文部科学省による支援を得て実施している、若手研究者の独立支援のためのテニュアトラック・プログラム。プログラムメンバーの研究者は、既存の研究室(コア研究室)に属し、その支援を受けながら、研究自体はコア研究室とは独立性を保ち、自らの手で進めている。本研究では、医学部 坂口光洋記念講座 発生・分化生物学教室 須田年生教授の支援を受けながら、中田特別研究講師が、研究デザイン、実験、共同研究施設との連携、論文の執筆などを独自に行った。

(3) DNA 二本鎖損傷周辺部位

「DNA」は、二本の DNA 鎖が二重らせん構造をとり、さらにこの DNA 二重らせんがヒストンと呼ばれるタンパク八量体に絡みついた状態で存在している。DNA の傷には、DNA 二重らせんを形成する DNA 鎖のうち片方の DNA だけが傷つく「DNA 一本鎖損傷」と、両方が傷つく「DNA 二本鎖損傷」とがあり、二本鎖損傷はより重篤な DNA 損傷である。DNA 二本鎖損傷がおきたときには、DNA の損傷部位だけでなく、DNA 損傷部位から数百万塩基にわたる領域において DNA 損傷に関連した応答が起こる。



(4) ユビキチン鎖

ユビキチンと呼ばれる低分子タンパクが、自らのリジンとカルボキシル末端とでイソペプチド結合し、鎖状に重合したもの。分解の目印として使われる場合には、48 番目のリジンが使われるが、DNA 損傷部位に生じるユビキチン鎖は 63 番目のリジンが使われている。

(5) 翻訳後修飾

mRNA から翻訳によって作られたタンパクが受ける化学修飾のこと。タンパクはさまざまな修飾により、さまざまに機能を変化させることが知られている。ユビキチン化も翻訳後修飾の一

つである。

(6) RNA 干渉による遺伝子サイレンシング法を用いたスクリーニング

特定の遺伝子の mRNA を破壊するような短鎖二本鎖 RNA を細胞内に導入することにより、その遺伝子産物の産生を抑制する方法（RNA 干渉による遺伝子サイレンシング法）を利用し、様々な遺伝子に対する短鎖二本鎖 RNA を細胞に導入し、その中から、導入前の細胞とは異なる性質を誘導するような短鎖二本鎖 RNA を発見する方法。

(7) 超高感度質量分析システム

イオン化した試料の質量電荷比を分析し、既知物質を同定する方法。産業技術総合研究所 バイオメディシナル情報研究センター 細胞システム制御解析チームが開発したシステムは、試料を極小のスペースに閉じこめて逃げられないようにする「ナノ LC（液体クロマトグラフィー）」（世界最小）と高精度なロボットを組み合わせた装置で、世界最高感度を誇る。ノイズの混入を防ぐため、クリーンルームにおいて解析が行われる。



ご取材の際には、事前に下記までご一報くださいますようお願い申し上げます。

本リリースは文部科学記者会、文部科学省科学記者会、厚生労働記者会、厚生日比谷クラブ、各社科学部等に送信させていただいております。

本発表資料のお問い合わせ先

研究内容全般について

慶應義塾大学 医学部 総合医科学研究センター

慶應・咸臨丸プロジェクト 特別研究講師

中田 慎一郎

〒160-8582 東京都新宿区信濃町 35

TEL : 03-5363-3475 FAX : 03-5363-3474

e-mail : snakada@z3.keio.jp

文部科学省 科学技術振興調整費

「若手研究者の自立的な研究環境整備促進」事業

「細胞と代謝」の基盤研究を担う若手育成（慶應・咸臨丸プロジェクト）について

慶應義塾大学 医学部

坂口光洋記念講座 発生・分化生物学教室

須田 年生

〒160-8582 東京都新宿区信濃町 35

TEL : 03-5363-3473 FAX : 03-5363-3474

e-mail : sudato@sc.itc.keio.ac.jp

慶應義塾大学 信濃町研究支援センター

豊福 壮介

〒160-8582 東京都新宿区信濃町 35

TEL : 03-5363-3879 (内線 : 64528) FAX : 03-5363-3507

e-mail : keio-kanrinmaru@adst.keio.ac.jp