

シンポジウム1

ハイパーサーミアとDNA損傷応答

8月31日(金) 9:20~11:00

第1会場

高橋 昭久

群馬大学重粒子線医学研究センター

武田 俊一

京都大学 医学研究科 放射線遺伝学講座

藤本 充章

山口大学大学院医学系研究科 医化学講座

森 英一朗

奈良県立医科大学 未来基礎医学教室

座長

高橋 昭久

群馬大学 重粒子線医学研究センター

内田 伸恵

鳥取大学医学部 放射線治療科



概要:ハイパーサーミアとDNA損傷応答

○高橋 昭久

群馬大学重粒子線医学研究センター

Overview: Hyperthermia and DNA damage response

○Akihisa TAKAHASHI

Gunma University Heavy Ion Medical Center

1990年代、パルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)法によって、温熱はDNAに二本鎖切断(DSB)を生成することが見出されていたものの、その検出量は低レベルでプラトーに達するため、アーティファクトとして残念ながら無視されてきた。

2000年代、我々はDSBを高感度検出できる免疫蛍光染色法によるヒストン γ H2AXフォーカス(1個のフォーカスが1個のDSBに対応)の測定によって、PFGE法でプラトーに達する前の温熱処理時間で、温熱はDSBを生成することを再発見した。さらに、①体温より高い41.5~45.5°Cの温度で温熱処理時間に依存した温熱感受性、②細胞周期依存的な温熱感受性(S期感受性)、③あらかじめマイルドな温熱処理後のインターバル時間依存的な温熱感受性(温熱耐性獲得)のいずれとも温熱誘導DSB形成率との間に高い相関性を見出した。温熱による γ H2AXフォーカス形成は様々な細胞で起こること、放射線照射後と比較して異なる挙動であるものの、温熱でDSB認識タンパク質が γ H2AXフォーカスの近くに局在すること、ATMを介して引き起こされること、温熱耐性の研究から温熱によるDSB生成の過程に $\text{Pol}\beta$ の失活が一部関与していることなどを報告してきた。最近、低酸素状態でも放射線に比べて温熱では抵抗性になりにくいと同様に、 γ H2AXフォーカスの生成量が減る割合が少ないことを見出した。このことは、温熱誘導DSB生成機構として、我々が提唱してきたラジカル反応を介したものは異なるしくみが存在する可能性が示唆された。

以上の結果から、温熱に曝されると直接的なタンパク質や脂質を多く含む生体膜の熱変性のみならず、何らかの生体応答を介して、DNAにも分子損傷を引き起こすものと考えてきた。しかしながら、コンセンサスは十分に得られていない状況である。

本シンポジウムでは、温熱によるDSB生成機構、損傷認識機構、修復機構について最新のデータをご紹介いただき、議論いただく機会を企画した。

2本のDNAの絡みを解消する酵素、トポイソメラーゼ2は、温度変化により触媒反応に失敗する頻度が増えDNA 2重鎖切断を作る

○武田 俊一, Hiroyuki SASANUMA, Salma AKTER

京都大学 医学研究科 放射線遺伝学講座

Hyperthermia causes abortive catalysis by Topoisomerase II leading to formation of DNA double-strand breaks

○Shuinichi TAKEDA, Hiroyuki SASANUMA, Salma AKTER

Department of Radiation Genetics, Graduate School of Medicine, Kyoto University

トポイソメラーゼ2酵素 (Topoisomerase II, 以下Top2と略す) は、DNA複製、転写、染色体分配に必須であり、各細胞で毎日数十万回以上の触媒反応をする。Top2の触媒反応は、2本のDNA間の絡みを解消する。Top2は、Top2 α とTop2 β の2種類があり、Top2 β は核内受容体が標的遺伝子を転写誘導するときにも機能する。Top2は、触媒反応中に一過的にDNA二重鎖切断 (以下DSBと略す) を作り、自らその切断を再結合する。我々は、Top2がしばしば再結合に失敗することを見出した。すなわち染色体DNAは、放射線被曝しなくてもふだんから頻回に2重鎖切断されているのである。

Top2は、2量体で働き、一過性にDSBを作るときに各Top2が1つのDSBの2つの断端に共有結合する (Top2-DNA複合体形成)。抗がん剤、Top2ポイズン (エトポシド) は、このDSBが再結合されるのを防ぎTop2は自身が作ったDSBを修復できなくなる。この状態を病的Top2-DNA複合体形成と呼ぶ。本講演では、エトポシドのみならず、熱やヒートショックタンパク阻害剤の影響によってTop2は自らが創った切断を自分で再連結できなくなることを発表する。

病的Top2ccは、難治性のDSBである。その理由は、5'切断端に共有結合したTop2を除去しない限り、相同組換えや非相同末端結合がDSBを連結できないからである。切断端からTop2を除去する酵素としてtyrosyl-DNA phosphodiesterase 2 (TDP2) が知られていた。我々は、TDP2以外の酵素として、Mre11 DNA切断酵素がG1を含むすべての細胞分裂周期フェーズにおいて切断端からTop2を除去することを見出した。そして家族性乳がん・卵巣がんの原因遺伝子、BRCA1とBRCA2がMre11によるTop2除去を促進することも発見した。以上の知見の、ハイパーサーミアでの意義を解説する。



熱ショック応答とDNA損傷認識機構

○藤本 充章

山口大学大学院医学系研究科 医化学講座

Heat shock response and mechanism of DNA damage recognition

○Mitsuaki FUJIMOTO

Dept. of Biochem. & Mol. Biol., Grad. Sch. of Med., Yamaguchi Univ.

全ての生物は、様々な外的環境の変化によって起こるミスフォールディングタンパク質に対応するための適応機構が備わっている。その中で、進化の過程でよく保存された仕組みが熱ショック応答であり、シャペロンとして働く熱ショックタンパク質群(HSPs)の誘導を特徴とする。この応答を転写レベルで制御する因子が、熱ショック転写因子1(HSF1)であり、タンパク質ホメオスタシス容量(あるいはプロテオスタシス容量)の重要な調節機構の一つである。HSF1は老化や老化と関連する神経変性疾患の進行、さらにはがんの発症や進展と密接に関連している。我々は、これまでにHSF1転写複合体の解析を糸口として、代謝変化がプロテオスタシス容量の調節に深く関わることを明らかにしてきた。新たにHSF1がDNA損傷応答の過程で主要な役割を担うポリADPリボシル化酵素PARP1およびPARP13が三者複合体を形成し、熱ショック応答やDNA修復を調整することを見出した。HSF1-PARP13-PARP1複合体は、あらかじめHSF1を介してゲノム上に局在しており、熱ストレスやDNA損傷ストレスに曝されるとPARP1の活性化が起こり、この複合体からPARP1が解離して熱ストレスではHSP70 遺伝子上、そしてDNA損傷では損傷DNAへ一過性に再分布すること分かった。この複合体形成は、DNA損傷ストレス後の二本鎖DNA切断時の相同組換えおよび非同源末端結合による修復でのDNA損傷修復因子群の集積に必要であった。一方、熱ストレスでは、HSP70遺伝子領域へ再分布したPARP1の周辺部でのポリADPリボシル化が亢進し、クロマチン構造変化に関与していた。さらに、DNA損傷ストレスによる三者複合体の形成阻害は、熱ストレスで起こる一連のHSP群の誘導を抑制し、ユビキチンタンパク質を蓄積させ細胞死を亢進させた。よって、ポリADPリボシル化を介したHSF1 転写複合体形成の調節が、熱ショック応答およびDNA損傷応答に重要な役割を担うことが示唆された。

温熱と相同組換え修復

○森 英一郎

奈良県立医科大学 未来基礎医学教室

Homologous recombination repair pathway in heat shock

○Eiichiro MORI

Department of Future Basic Medicine, Nara Medical University

DNA二本鎖切断 (DSB) は、DNA修飾剤や放射線により引き起こされることが知られている。高橋昭久と大西武雄が、温熱によってもDSBが引き起こされることを中性コメットアッセイや γ H2AXのフォーカス形成により報告 [Cancer Res 2004] して以降、温熱によって生じるDNA損傷に関連した研究が進んできた。これまでの研究から、温熱によって生じたDSBが温熱による細胞死において重要であることが明らかになってきたが、温熱が引き起こすDNA損傷に関与する修復経路や損傷応答経路については未解明な点が多く残されている。本シンポジウムでは、温熱処理によってDSBが形成されることの発見から、相同組換え経路による修復に関する近年の研究内容を含めて紹介する。