

平成 22 年 5 月 13 日現在

研究種目： 若手研究 (B)  
 研究期間： 2008 ~ 2009  
 課題番号： 20710043  
 研究課題名 (和文) 損傷乗り越え型 DNA 合成酵素 Rev1 の発がんへの関与  
 研究課題名 (英文) Role of Rev1, repair enzyme in translesion DNA synthesis, in tumorigenesis  
 研究代表者  
 豊島 めぐみ (TOYOSHIMA MEGUMI)  
 広島大学・原爆放射線医科学研究所・助教  
 研究者番号： 80423052

研究成果の概要 (和文)：損傷乗り越え合成」の中心的役割を果たしている Rev1 に着目し、その機能と発がんへの関係を個体レベルで解明することを目的とした。本研究結果から、Rev1 過剰発現が化学物質による発がんに影響を及ぼすことを示唆する結果が得られた。また、化学物質投与により誘発された腫瘍を用いた解析から、Rev1 過剰発現により高頻度に検出される突然変異部位を検出することができた。

研究成果の概要 (英文)：Over-expression of Rev1 may be accelerate development of chemical induced tumors. Furthermore, over-expression of Rev1 induced the point mutation at the specific locus which was not detected in the wild-type mice.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：環境学・放射線・化学物質影響科学

キーワード：生物影響、修復

## 1. 研究開始当初の背景

1999 年、花岡らのグループによって、紫外線損傷を乗り越えることのできる DNA ポリメラーゼが発見された。この発見から、次々と生物界に広く同様の DNA ポリメラーゼが発見され、Y ファミリー DNA ポリメラーゼとして知られている。

当研究室は、酵母で Y ファミリーに属する

Rev1 遺伝子のヒト、マウスホモログを世界で初めて分離し、その機能解析を行った。その結果、Rev1 は脱塩基部位の損傷乗り越え DNA 合成に重要な役割を担い、点突然変異を誘発する可能性が高い事を明らかにし、海外の研究結果を常にリードしてきた (Masuda, J. Biol. Chem., 2001, 2002, 2003)。

さらに、他の損傷乗り越え DNA ポリメラ

一々が *Rev1* と競合的に結合する事から、*Rev1* が中心的な役割を果たしていると考えられる。しかしながら、*Rev1* の個体レベルでの研究に関してはあまり報告がないのが現状である。

## 2. 研究の目的

がんの多くの遺伝子変異は点突然変異である。最近の研究により、点突然変異の誘発には、損傷部位を乗り越えて複製を行うこと「損傷乗り越え DNA 合成」のできる特殊なポリメラーゼが関与していることが明らかにされた。このようなポリメラーゼ群は、忠実度が低く「誤りがちな DNA 合成」をすることで突然変異を誘発する。

花岡らにより同定された色素性乾皮症 variant (XP-V) の原因遺伝子産物は、このようなポリメラーゼの一種で、紫外線による損傷を鋳型として DNA 合成を行うことができる。XPV では、原因遺伝子の機能不全によりがんの頻度が上昇することから、「損傷乗り越え DNA 合成」は、突然変異を介してがんの発症に深く関与すると考えられる。

これまでの「損傷乗り越え DNA 合成」に関する研究は、主として試験管内での損傷 DNA と精製タンパクとの結合実験や再構成系による知見を中心に進められている。しかし、発がんへの関与まで考えた場合には、がん化する細胞のみでなく間質や免疫系を含めた個体レベルの研究でなければ本質的に解明するのは困難である。

本研究は、「損傷乗り越え合成」の中心的役割を果たしている *Rev1* に着目し、その機能と発がんへの関係を個体レベルで解明することを目的としている。

## 3. 研究の方法

### (1) マウス発がん実験

C57BL/6 系統の野生型マウス、*Rev1* トランスジェニックマウスを用意し、3 週齢から屠殺を行うまでの期間中、25mM ZnSO<sub>4</sub> 水を自由摂取させた。6 週齢で、*N*-methyl-*N*-nitrosourea (MNU) を 0.9% 生理食塩水に溶解し、50mg/kg を 1 回腹腔内投与した。その後屠殺し、マウス一匹あたりの小腸腫瘍の数、及び小腸腫瘍の大きさを計測した。また、小腸に誘発した腫瘍を顕微鏡で観察しながら採取した。

### (2) 突然変異検出

採取した腫瘍試料から total RNA を抽出し、RT-PCR 法により cDNA を合成した。合成した cDNA を鋳型として、ダイレクトシーケンス法により遺伝子突然変異の検出を行った。

## 4. 研究成果

### (1) マウス発がん実験

C57BL/6 系統の野生型マウス、*Rev1* トランスジェニックマウスを用意し、*N*-methyl-*N*-nitrosourea (MNU) 投与を行った。MNU 投与から 1 ヶ月で屠殺を行った結果、野生型マウス、*Rev1* トランスジェニックマウスの全てのマウスに小腸腫瘍が誘発されていた。小腸腫瘍の数は、野生型マウスよりも *Rev1* トランスジェニックマウスの方が有意に多かった。また、腫瘍の大きさに関して、野生型マウスよりも *Rev1* トランスジェニックマウスの方が腫瘍のサイズが大きいという結果が得られた。

### (2) 突然変異検出

次に、小腸に誘発した腫瘍試料から total RNA を抽出し、RT-PCR 法により cDNA を合成した。合成した cDNA を鋳型として、ダイレクトシーケンス法により遺伝子突然変異の検出を行った。野生型マウスと *Rev1* トランスジェニックマウスでは検出された突然変異頻度に有意な差が検出された。また野生型マウス、*Rev1* トランスジェニックマウス由来小腸腫瘍から検出された突然変異のスペクトラムを比較したところ、検出された変異スペクトラムに差があることが明らかとなった。

### (3) まとめ

本研究により、*Rev1* 過剰発現が化学物質による発がんに影響を及ぼすことを示唆する結果が得られた。また、化学物質投与により誘発された腫瘍を用いた解析から、*Rev1* 過剰発現により高頻度に検出される突然変異部位を検出することができた。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕 (計 10 件)

① 豊島めぐみ, 習陽, 三家本隆宏, 渡邊敦光, 増田雄司, 本田浩章, 濱崎幹也, 楠洋一郎, 神谷研二

損傷乗り越えポリメラーゼ *Rev1* の放射線発がんに与える影響

広島医学, 査読あり, in press

② 三家本隆宏, 豊島めぐみ, 習陽, 本田浩章, 濱崎幹也, 楠洋一郎, 神谷研二

損傷乗り越えポリメラーゼ *Rev1* の過剰発現が放射線による突然変異誘発に与える影響

広島医学, 査読あり, in press

③Watanabe H, Toyoshima M, Ishikawa M, Kamiya K.  
Paternal monoenergetic neutron exposure results in abnormal sperm, and embryonal lethality and transgenerational tumorigenesis in mouse F1 offspring. Oncology Reports, 査読あり, 2010, in press

④Huang L, Toyoshima M, Asakawa A, Inoue K, Harada K, Kinoshita T, Chen S, Koizumi A.  
Levels of N-acylethanolamines in 0,0,S-rimethylphosphorothioate (OOS-TMP)-treated C57BL/6J mice and potential anti-obesity, anti-diabetic effects of OOS-TMP in hyperphagia and hyperglycemia mouse models. Pharmacol Biochem Behav., 査読あり, 2009, 92(1), 1-5

⑤Era S, Harada KH, Toyoshima M, Inoue K, Minata M, Saito N, Takigawa T, Shiota K, Koizumi A.  
Cleft palate caused by perfluorooctane sulfonate is caused mainly by extrinsic factors. Toxicology., 査読あり, 2009, 4; 256(1-2), 42-7

⑥Toyoshima M  
Analysis of p53 dependent damage response in sperm-irradiated mouse embryos  
Journal of radiation research, 査読あり, 2009, 50(1), 11-17

⑦豊島めぐみ, 神谷研二、丹羽太貫  
S 期チェックポイント機構における最近の知見  
放射線生物研究, 査読なし, 2008, 43(3), 223-35

⑧ 豊島めぐみ, 習陽, 久保圭, 濱崎幹也, 楠洋一郎, 本田浩章, 増田雄司, 渡邊敦光, 神谷研二  
損傷乗り越え DNA 合成酵素 Rev1 の突然変異誘発への寄与  
長崎医学会雑誌, 査読あり, 2008, 83, special issue, 367-369

⑨ Takeda J, Uematsu N, Shiraishi S, Toyoshima M, Matsumoto T, Niwa O.  
Radiation induction of delayed recombination in Schizosaccharomyces pombe.  
DNA repair, 査読あり, 2008, 7(8), 1250-61

⑩ Asakawa A, Toyoshima M, Harada KH, Fujimiya M, Inoue K, Koizumi A  
The ubiquitous environmental pollutant perfluorooctanoic acid inhibits feeding behavior via peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$ .  
Int. J. Mol. Med., 査読あり, 2008, 21(4):439-45

[学会発表] (計 13 件)

①豊島めぐみ  
放射線発がん、化学発がんにおける損傷乗り越え DNA 合成酵素 Rev1 の役割  
日本放射線影響学会第 52 回大会  
2009 年 11 月 11 日  
広島

②豊島めぐみ  
損傷乗り越え DNA 合成酵素 Rev1 過剰発現への寄与  
第 20 回 DNA 複製・組換え・修復ワークショップ  
2009 年 11 月 1 日  
彦根

③豊島めぐみ  
Rev1 の過剰発現は MNU による小腸腫瘍誘発を促進する  
第 68 回日本癌学会学術総会  
2009 年 10 月 1 日  
横浜

④豊島めぐみ  
損傷乗り越え DNA 合成酵素 Rev1 過剰発現が化学発がん、放射線発がんに及ぼす影響  
第 34 回中国地区放射線影響研究会  
2009 年 7 月 29 日  
広島

⑤豊島めぐみ  
損傷乗り越えポリメラーゼ Rev1 の放射線発がんに与える影響  
第 50 回原子爆弾後障害研究会  
2009 年 6 月 7 日  
広島

⑥Toyoshima M  
Function of Rev1 on Carcinogenesis induced by ionizing radiation and chemical agents  
2nd Asian Congress of Radiation Research (ACRR 2009)  
2009 年 5 月 17 日  
Seoul

⑦豊島めぐみ  
損傷乗り越え DNA 合成酵素 Rev1 過剰発現マウスにおける発がん機構解明  
第 31 回日本分子生物学会年会

2008年12月12日  
名古屋

⑧ 豊島 めぐみ

The Role of Rev1 in Tumorigenesis  
International Workshop on Radiation  
Health Effects Research -47th ISTC Japan  
Workshop-  
2008年12月1日  
長崎

⑨ 豊島 めぐみ

損傷乗り越え DNA 合成酵素 Rev1 の放射線応  
答、放射線発がんにおける寄与  
日本放射線影響学会第51回大会  
2008年11月20日  
北九州

⑩ 豊島 めぐみ

発がんにおける損傷乗り越え DNA 合成酵素  
Rev1 の役割  
第67回日本癌学会学術総会  
2008年10月28日  
名古屋

⑪ 豊島 めぐみ

放射線がん、化学発がんにおける損傷乗り越  
え DNA 合成酵素 Rev1 の寄与  
第33回中国地区放射線影響研究会  
2008年7月30日  
広島

⑫ 豊島 めぐみ

損傷乗り越え DNA 合成酵素 Rev1 の発がんに  
おける役割  
変異機構研究会・第21回夏の学校  
2008年6月14日  
小牧

⑬ 豊島 めぐみ

損傷乗り越え DNA 合成酵素 Rev1 の突然変異  
誘発への寄与  
第49回原子爆弾後障害研究会  
2008年6月8日  
長崎

6. 研究組織

(1) 研究代表者

豊島 めぐみ (TOYOSHIMA MEGUMI)  
広島大学・原爆放射線医科学研究所・助教  
研究者番号：80423052

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：