

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：82502

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K12178

研究課題名（和文）エピゲノム修飾制御による放射線応答の経路選択

研究課題名（英文）Pathway Selection of Radiation Response by Regulation of Epigenomic Modification

研究代表者

中島 菜花子（Nakajima, Nakako）

国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・量子生命・医学部門量子医科学研究所・研究員

研究者番号：50402863

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究ではクロマチン構造を制御するヒストン修飾酵素の一つであるH3K36メチル化酵素NSD2の欠損細胞を作成し、NSD2のDNA損傷応答に対する影響を解析した。NSD2欠損はX線に対する生存率・増殖抑制に影響しなかった。DNA損傷誘導性の抗がん剤および紫外線照射に対してNSD2欠損細胞は感受性が高くなった。抗がん剤の効果を高めるタンパクSLFN11の発現がNSD2欠損細胞内で高くなった。このことから、NSD2はSLFN11発現を制御することによって、DNA損傷誘導性の細胞死を制御していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒストンH3K36メチル化は転写活性のあるゲノム領域に集積するヒストン修飾であるにも関わらず、単にヒストンH3K36メチル化酵素を欠損させても遺伝子発現に顕著な変化が認められず、機能が判然としないエピゲノム修飾であった。本研究は遺伝子発現解析を通してヒストンH3K36メチル化酵素を介した新たな放射線応答制御の発見である。また、ヒストンH3K36メチル化酵素遺伝子の変異はがん細胞においてしばしば見出されており、本研究によってエピゲノム制御異常による細胞がん化の仕組みが明らかになり、分子標的薬の重要な基盤となると期待される。

研究成果の概要（英文）：The DNA repair pathway that determines radiosensitivity is affected not only by DNA repair factors, but also by the chromatin structure of the DNA damaged area. In this study, to assess the molecular mechanism of the histone-modifying enzyme H3K36 methylase NSD2 that regulates chromatin structure in DNA damage response, NSD2-deficient cells were created and their effects on DNA damage responses were analyzed. NSD2 deficiency did not affect survival or growth suppression against X-rays. NSD2-deficient cells were more susceptible to DNA-damaging anticancer drugs and ultraviolet irradiation. Expression of the protein SLFN11, which enhances the effects of anticancer drugs, was increased in NSD2-deficient cells. These results suggest that NSD2 regulates DNA damage-induced cell death by regulating SLFN11 expression.

研究分野：放射線・化学物質影響科学

キーワード：がん治療 DNA修復 エピジェネティクス ヒストン修飾酵素 DNA損傷応答

1. 研究開始当初の背景

DNA 修復機構は、放射線感受性を決定づけることで放射線治療成績に大きく影響する。また、DNA 修復因子の先天性遺伝子欠損は家族性がんの原因であることから明らかなように、DNA 修復経路の異常は遺伝子不安定性・発がんにつながるため、DNA 修復機構は古くから世界的に広く研究され、多くの報告がある。がん治療後の QOL のさらなる向上のために、テーラーメイド放射線治療が望まれており、そのためには DNA 修復因子の先天性遺伝子背景に影響される応用研究に加えて、組織・がん微小環境ごとの放射線感受性の解析すなわちエピジェネティカルな遺伝子発現の変化の解析へと発展が期待されている。細胞にとって最も重篤な損傷である DNA 二重鎖切断 (DSB) は、相同末端組換え(HR)と非同末端結合 (NHEJ) と呼ばれる二つの主要な経路によって修復される。二つの経路選択は、細胞の細胞周期に決定されている。さらに申請者らは、これまでに重粒子線に誘導される複雑な DNA 損傷修復には、これまで報告されてきた NHEJ とは異なる新しい経路 NHEJ が働くことを発見した (NI Nakajima et al., DNA repair revise 中)。すなわち、DNA 修復経路は DNA 損傷タイプによっても選択されることが明らかになった。そして最近新たに、DNA 損傷部位のヒストン構造が DNA 修復経路選択に影響していることが明らかになりつつある(T Yasuhara et al., Cell 2018)。DNA は細胞核内で主に二重鎖で存在し、ヒストンタンパクに二重に巻き付いている。

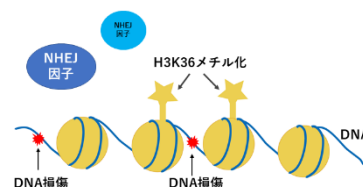


図1. DNA損傷部位のH3K36のメチル化とNHEJ因子の関連性

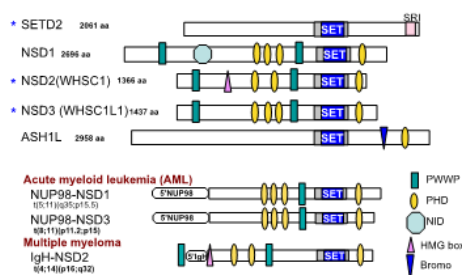


図2 ヒストンH3K36メチル化酵素Set2ファミリーとガンで見られる融合タンパク質

DNA 合成や遺伝子転写活性部位では、DNA が DNA 合成因子・転写因子等に結合しやすくするために、ヒストン同士の結合が弛緩し、DNA が露出される。このヒストン同士の凝集・弛緩を制御しているのがヒストン修飾酵素であり、遺伝子発現制御の多くが、ヒストン修飾酵素によって制御されている (図 1)。DNA 修復においても、DNA 修復因子が DNA 損傷部位に結合するため、ヒストン修飾酵素が関わっていることが多く報告されている。ヒストン H3 の 36 番目のリジン残基(ヒストン H3K36)のメチル化は転写活性領域に分布し(Reviewed in McDaniel SL. and Strahl BD. Cell. Mol. Life Sci. 2017)、転写活性領域のマーカーとして適している。ヒストン H3K36 メチル化は、酵母では唯一 RNA ポリメラーゼ結合(SRI)ドメインを有した Set2 によって担われているが、マウスやヒトでは少なくとも 5 種類の Set2 のメチル化酵素活性 SET ドメインを高度に保存したタンパク質が存在する (図 2)。近年、特定の H3K36 メチル化酵素が DNA 二本鎖切断(DSB)修復を促進するとの報告がなされているが諸説諸々でその分子機構は未だによくわかっていない。興味深いことに、いずれの H3K36 メチル化酵素もヒトの疾患、中でもガンと密接に関わっており、SETD2 遺伝子はしばしば腎細胞がんに変異しており、図に示すように NSD ファミリーはいずれも染色体転座による過剰発現が血液細胞のがん化を導く (Reviewed in Wagner and Carpenter, Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2012)。従って放射線損傷応答における H3K36 メチル化酵素の機能の解明は、有効な治療法の選択のために極めて重要である。

2. 研究の目的

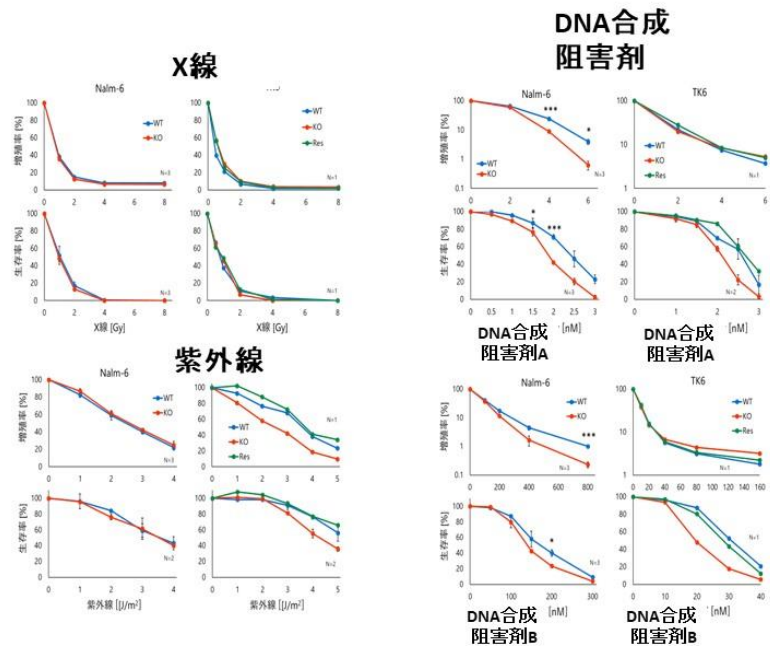
本研究では DNA 修復経路における NSD2 の分子機能を明らかにするため、NSD2 欠損細胞を作製し、様々なタイプの DNA 損傷応答性への影響を解析した。

3. 研究の方法

ヒトリンパ芽球白血病細胞 Nalm6 細胞および TK6 細胞に Crsper-Cas9 システムを用いて、NSD2 欠損細胞を作製した。欠損細胞および野生型細胞に X線、紫外線照射、または DNA 損傷誘導性の抗がん剤処理し、MTT 法により細胞増殖率を計測し、コロニーフォーメーションアッセイにより生存率を測定した。また、細胞ライセートからタンパクを分離し、Western Blotting 法にて、DNA 損傷応答関連因子のタンパク発現を解析した。

4. 研究成果

NSD2 欠損は、X線応答には影響しなかった。紫外線と DNA 損傷誘導性の抗がん剤において、感受性が増加した。また、抗がん剤の効果を高めるタンパク SLFN11 の細胞内発現が NSD2 欠損細胞において増加を認めた。これらのことから、NSD2 は SLFN11 の発現を制御することによって、DNA 損傷誘導性の細胞死を調節していることが示唆された。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	浦 聖恵 (Ura Kiyoe) (80289363)	千葉大学・大学院理学研究院・教授 (12501)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関