

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 22 日現在

機関番号：11501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21592676

研究課題名（和文）放射線治療における晩期有害事象早期発見のための看護アセスメント確立の試み

研究課題名（英文）The trial of building a nursing assessment for detecting chronic side effects in early stages on radiotherapy.

研究代表者

関亦 明子（SEKIMATA AKIKO）

山形大学・医学部・准教授

研究者番号：50321823

研究成果の概要（和文）：有害事象発現の個人差は遺伝的背景によるものと考えられるため、本研究においては有害事象発現に大きな役割を果たす DNA 修復遺伝子に注目した。乳がんに関する修復遺伝子のスクリーニングによって、25 個の候補因子が得られた。うち 5 つはこれまで DNA 修復に関与することが知られていない遺伝子であった。さらに、代表者が単離した新奇修復遺伝子 *MDT1* の機能解析を行ったところ、タンパク質輸送異常時における新たな機能を示唆する結果を得た。

研究成果の概要（英文）：The screening for detecting genes which involved in breast cancer development revealed 25 related ones. The five of them were unknown as DNA repair factors. Also, we characterized a novel repair gene, *MDT1*, which we isolated previously, and the experiment showed that *MDT1* has a role for the protein metabolism.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	2,400,000	720,000	3,120,000
2010 年度	700,000	210,000	910,000
2011 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：看護学・基礎看護学

キーワード：放射線治療、DNA 修復、乳がん、看護アセスメント

## 1. 研究開始当初の背景

乳房腫瘍における放射線療法の晩期有害事象として、治療後半年以降に、線維化、リンパ浮腫などが起こることが知られている。晩期有害事象は治療患者の 5%以内抑えられているが、せつかくがんからサバイブしても、いったん起こると対象者の QOL を著しく阻害する。また、晩期有害事象は初期に発見されなければ、治療や回復が難しくなるため、早期発見の必要性が強調されている。これらの有害事象は照射線量に比例して増えるが、個人差が激しく危険度の予測は難しかった。治療終了後、晩期有害事象反応の現れ

やすい対象者が予測できたとしたら、1)その対象者の帰宅後も定期検診の頻度調整や、注意深い観察によって早期に発見することが可能になる。2)事前に対象者個人の生活全般の注意事項について、より実情に沿ったオーダーメイドの説明ができる。3)晩期有害事象の予防・軽減の対策を検討することができる。などの利点がある。医師よりも長時間対象者に接する看護師が有害事象に対する正しいアセスメント方法を知り、兆候をみのがさないことで、特に上記 2), 3)において大きな貢献ができると考えられる。

## 2. 研究の目的

晩期有害事象を早期に予測する科学的な看護アセスメントの指標を確立し、ケアの改善を目指す基盤を構築する。

## 3. 研究の方法

晩期有害事象の看護アセスメントを行うにあたって、考慮すべき項目となることが予測される有害事象発現に関わる遺伝子の検索と機能解析を行った。有害事象の発現には個人差があり、予測が難しい。これは個人の遺伝的背景によるものと考えられる。そこで、本研究においては有害事象発現に大きな役割を果たす DNA 修復遺伝子に注目した。

## 4. 研究成果

(1) 乳がんに関する DNA 修復遺伝子の単離を試みた。乳がんを引き起こす遺伝子はほとんどが遺伝子の修復に関する遺伝子であり、有害事象を引き起こす遺伝子と重複していると考えられる。実際に乳がん患者の白血球は放射線感受性が正常細胞よりも強いことが知られている。つまり、がんを引き起こす遺伝的背景をもつものは、バックグラウンドを持たないものに比べて放射線感受性があり、有害事象が生じやすいと考えられる。

そこで、実際の研究においては、修復遺伝子研究のモデル生物として優れている出芽酵母を用いたスクリーニングにより修復に関わる遺伝子を獲得した。ほ乳類の家族性乳がんを引き起こす *BRCA1* の出芽酵母ホモログ、*RAD9* 欠損のバックグラウンドで機能を失うと、methylmethanesulfonate (MMS) に感受性を示す遺伝子の単離を行った。MMS は放射線と類似の損傷修復反応を引き起こすと考えられているアルキル化剤である。

酵母の遺伝子ノックアウトライブラリーに *RAD9* 欠損を導入し、*RAD9* とその他の遺伝子の二重変異株を作成した。この株を 0.01% MMS 存在下で培養し、MMS が存在した時のみ感受性を示す 202 個の候補因子を得た。さらに候補因子の感受性を定量的に検討し、25 個に絞り込んだ。候補因子を生物学的な機能により分類すると (図 1)、ほとんどが DNA 修復に関わる遺伝子であったが、これまで修復に関わることが知られていなかった 5 つの遺伝子も単離された。

(2) 本研究で単離された候補因子の分析により、*RAD9* の性質について思いがけなく新たな知見が得られた。*RAD9* の欠損株は低濃度の MMS 処理で変異導入の頻度が高くなっていた。つまりこれは、*RAD9* の post-replication repair (PPR) への直接的な関与を示唆するものである。本スクリーニングの候補因子の生物学的な分類の分析によって 7 個が PPR に関わる遺伝子であったことから、初めに *RAD9*

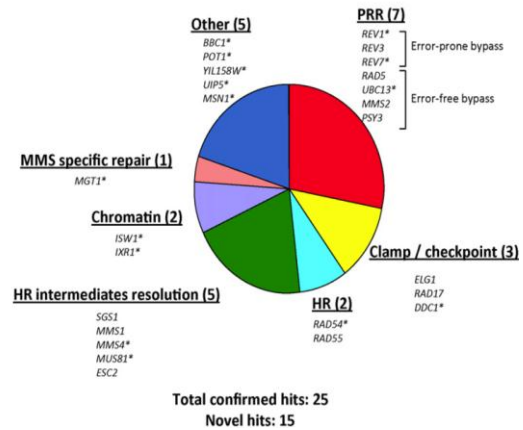


図 1. スクリーニングにより得られた候補因子の生物学的分類

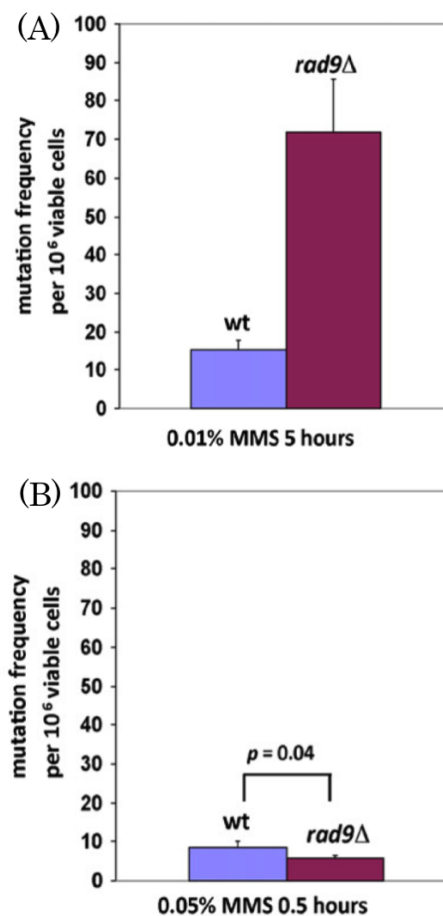


図 2. MMS の濃度依存的な *RAD9* の変異導入頻度

は PPR と並行か、同様の機能を持つ可能性が示唆された。PPR は損傷乗り越え修復とも呼ばれ、PPR が働くことによって DNA に多少の変異が導入されても、細胞は DNA を複製して増殖することができるようになる。しかし、変異が導入されやすくなる性質が観察される。そこで、*RAD9* の 0.01% MMS 存在下での変異導入頻度を観察すると、野生型に比べて 6

倍程度、変異導入頻度が高くなっていた (図 2-A)。これは 0.05% MMS では観察されなかった (図 2-B)。MMS の濃度が高くなると、細胞は PPR 経路ではない、他の系を修復系として選択するか、またはサバイブできないためであると考えられる。

(3) DNA 修復に関わると思われる新奇遺伝子 *MDT1* の解析を行った。*MDT1* は以前、代表者によって獲得された遺伝子であるが、近年 DNA 修復に重要な役割を果たすことがわかってきた。*MDT1* は欠損によって、タンパク質の輸送温度感受性変異 *sec12-4* を抑圧することから、タンパク質輸送における役割もあるなど多機能である可能性が示唆されている。そこで、まず、*MDT1* の性質を調べるために、タンパク質輸送の開始装置である Sec12 タンパク質や、輸送の積み荷である carboxypeptidaseY (CPY) のタンパク質量の変化を観察したところ (図 3)、*sec12-4Δmdt1* の二重変異株では、どちらも増加傾向にあった。このことから、*MDT1* はタンパク質の分解か合成に関わる可能性が示唆された。現在 *MDT1* のタンパク質合成や分解について、関与を検討している。

がん細胞はタンパク質輸送に異常が生じやすい状態のままそれを乗り越えて増殖する。*MDT1* はタンパク質輸送異常時に細胞の増殖を回復させており、タンパク質異常時の細胞増殖をコントロールしている可能性がある。実際に、*MDT1* の哺乳類ホモログ *ASCIZ* はがん抑制遺伝子として注目されており、出芽酵母においてタンパク質輸送や細胞増殖についての *MDT1* の詳細な分子機構を解明することによって、新奇のがんの増殖促進経路を解明できる可能性がある。

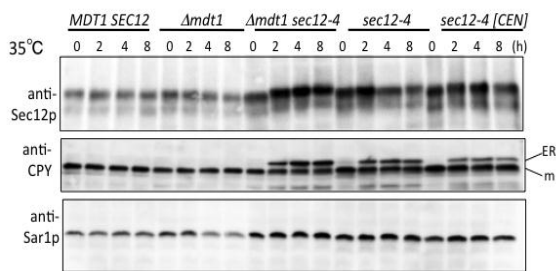


図 3. 各変異株における Sec12, carboxypeptidaseY のタンパク質量の変化

##### 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 3 件)

- ① Sekimata M, Murakami-Sekimata A, Homma Y. CpG methylation prevents YY1-mediated transcriptional activation

of the vimentin promoter *Biochem Biophys Res Commun.* 2011 Nov 4;414(4):767-72. 査読有

- ② Murakami-Sekimata A, Huang D, Piening BD, Bangur C, Paulovich AG. The *Saccharomyces cerevisiae* *RAD9*, *RAD17* and *RAD24* genes are required for suppression of mutagenic post-replicative repair during chronic DNA damage. *DNA Repair* (Amst). 2010 Jul 1;9(7):824-34. 査読有

- ③ Murakami-Sekimata A, Sato K, Sato K, Takashima A, Nakano A. O-Mannosylation is required for the solubilization of heterologously expressed human beta-amyloid precursor protein in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genes Cells.* 2009 Feb;14(2):205-15. 査読有

[学会発表] (計 4 件)

- ① 関亦明子, 佐藤菜津美, 中野明彦, 細胞周期 G<sub>2</sub>/M 期進行に関与する *MDT1* 遺伝子の欠損による出芽酵母、温度感受性分泌変異 *sec12-4* の抑圧メカニズム, 日本生化学会大会、2011 年 9 月, 国立京都国際会館 (京都)

- ② 関亦明子, 佐藤菜津美, 中野明彦, 細胞周期関連因子、*MDT1* による *sec12-4* 分泌変異抑圧のメカニズム, 酵母遺伝学フォーラム, 2011 年 9 月, 九州大学 (福岡)

- ③ Pining B.D., Huang D., Hsu HM., Wang S., Murakami-Sekimata A, Wang P, Paulovich AG., A Cross-Species approach for the Discovery of Genetic Interactions in the DNA Damage Response., Environmental & Molecular Mutagenesis, 2010 October, Omni Fort Worth Hotel (Fort Worth, Texas, USA)

- ④ Pining B.D., Huang D., Murakami-Sekimata A, Bangur C., Paulovich AG., The *Saccharomyces cerevisiae* *RAD9* gene is required for suppression of mutagenic translesion synthesis during chronic DNA damage., Yeast Genetics & Molecular Biology Meeting, 2010 July, University of British Columbia (Vancouver, Canada)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

関亦 明子 (SEKIMATA AKIKO)

山形大学・医学部・准教授

研究者番号：50321823

### (2) 研究分担者

丸山 良子 (MARUYAMA RYOKO)

東北大学大学院・医学系研究科・教授

研究者番号：10275498

南 優子 (MINAMI YUKO)

東北大学大学院・医学系研究科・教授

研究者番号：60239316

渡邊 生恵 (WATANABE IKUE)

東北大学大学院・医学系研究科・助教

研究者番号：30323124

菅野 恵美 (KANNO EMI)

東北大学大学院・医学系研究科・助教

研究者番号：10431595

### (3) 連携研究者

中野 明彦 (NAKANO AKIHIKO)

東京大学大学院・理学系研究科・教授

研究者番号：90142140