

ゲノム障害制御研究部門 ゲノム障害病理研究分野研究概況

教 授	宮 川	清			
助 教 授	沼 本	通 孝			
助 手	田 中	耕 三	(休職中)		
助 手	東 川	史 子	(~平成14年 8 月)		
助 手	石 田	万 里	(平成14年10月~)		
大 学 院 生	敦 賀	孝 典	*1(~平成14年 9 月)		
大 学 院 生	芳 原	敬 士	*2		
大 学 院 生	日 山	享 士	*2		
大 学 院 生	伊 達	修	*3		
大 学 院 生	田 村	博 己	*1(平成14年10月~)		
研 究 生	桂	真 理	*1		

*1医学部・眼科

*2医学部・外科学第二

*3医学部・外科学第一

本研究分野は、放射線がヒトゲノムに与える影響の中で最も重要なものの一つである DNA 二重鎖切断に対する相同組換え修復機構の解析を行っている。真核生物におけるこの分野の研究は酵母での解析が先行し、近年ではニワトリでの研究が活発に行われるようになった。しかし、哺乳動物、特にヒトでの詳細な分子機構の研究は極めて少ない。そこで我々はヒトにおける相同組換え機構を解明するために、ヒト新規相同組換え遺伝子の候補である RAD54B を単離し、それが姉妹染色分体を介さない相同組換えに必須の遺伝子である事を証明した。一方、姉妹染色分体を介する相同組換えに関与しヒトの腫瘍発生にも関与する可能性がある RAD51関連遺伝子の機能解析も進めている。これらの研究により、ヒトにおける相同組換えの分子機構が明らかになることが期待されるとともに、発がん機構や放射線障害の分子機構の理解も深まることが期待される。これらの研究は、ヒト細胞におけるノックアウト実験を基盤としており、効率よくノックアウトするための技術開発は、ヒトにおける細胞生物学や遺伝子治療の発展に貢献することが期待される。

1. 研究題目：RAD51関連遺伝子の機能異常と腫瘍発生

参加研究者：芳原敬士，敦賀孝典，日山享士，桂 真理，伊達 修，石田万里，宮川 清

真核生物の相同組換えにおいて中心的役割を果たす RAD51 と構造的に関連した遺伝子には RAD51B, RAD51C, RAD51D, XRCC2, XRCC3, DMC 1 が存在する。我々は既に RAD51B は子宮筋腫において染色体転座によって RAD51B/HMGIC 融合遺伝子を形成することを報告した。また、XRCC2 や XRCC3 の発がんに関与する可能性のある遺伝子多型が報告されている。これらの結果は RAD51 関連遺伝子の異常が腫瘍発生に関与する可能性を示唆する。RAD51 の機能が詳細に解析されているのに対して、これらの遺伝子は進化上の保存性もそれほど高くないこともあり、それらの機能の詳細は不明である。そこで、RAD51 関連遺伝子異常の腫瘍発生における役割を明

らかにするために、ヒト細胞におけるノックアウト実験によって機能解析を進めている。その結果、XRCC3の欠損細胞の作製に成功し、この遺伝子が姉妹染色体を介する相同組換えに重要な役割を担っていることが明らかとなった。

2. 研究課題：ヒト体細胞における相同組換えによる遺伝子変換

参加研究者：桂 真理，田村博己，宮川 清

酵母に比べて相同組換えの頻度が極めて低い哺乳動物細胞においては、マウスES細胞を除いては相同組換えによる遺伝子変換が行われることは極めてまれである。特に、ヒト細胞における相同組換えによる遺伝子変換はきわめて困難であるとされている。しかし、ヒト細胞における遺伝子機能の解析をするために、さらには異常遺伝子を正常遺伝子に置換する究極の遺伝子治療においては、効率のよい相同組換え方法は必須の技術となる。現在のところ、ヒト細胞における相同組換え方法に関する系統的な技術開発は行われていない。そこで、我々はヒトの各種細胞を用いて相同組換えの頻度の検討を開始した。遺伝子座によってはプロモータートラップ法によってランダム組み込みに対する相同組換え比率を10%まで向上することが可能である。しかし、多くの遺伝子座における相同組換え比率は0.1%以下であることも明らかとなった。このような低頻度では研究や臨床応用には使用困難であることより、新たな相同組換えを促進する方法の開発が必要である。RAD54Bの発現誘導による外来遺伝子断片による相同組換え効率の検討を行ったが、現在のところ有意な結果は得られていない。

3. 新規遺伝子 ODAG の機能解析

参加研究者：敦賀孝典，田村博己，宮川 清

発生の分子機構を理解するために、眼発生をモデルとしてDNAアレイによって発生期に発現が誘導される新規遺伝子の単離を試みた。その結果、Znフィンガーを有する新たな遺伝子が単離されODAG (ocular development associated gene)と命名した。この遺伝子は網膜発生期に発現が高く、生後発現レベルは低下する。眼以外にも全身臓器に発現がみられるが、精巣での発現が高い。網膜色素上皮において発現誘導を行うと増殖速度が高まることより、この遺伝子は細胞増殖の情報伝達に関わっていると思われる。

4. 研究題目：転写抑制因子 ZF5 に対する自己抗体

参加研究者：沼本通孝

自己免疫疾患はself-toleranceの喪失によって起こる免疫障害が直接の原因と考えられている。しかし、個々の自己抗体と自己免疫疾患の関係については、未だ充分な解析がなされているとは言い難い。一方、ZF5は我々が癌遺伝子であるc-myc遺伝子の転写抑制因子として単離したKruppel型zinc fingerタンパクであり、HIV遺伝子のプロモーターを活性化することも明らかになっている。また、ZF5のN末端に存在するPOZ (poxvirus zinc finger) ドメインは種を超えてよく保存されているドメインでタンパク-タンパク結合に深く関与していると考えられている。このPOZ/zinc fingerタンパクのファミリーに属するものとしてはZF5の他に有名な転写因子としてBCL-6, PLZFおよびAPM1がある。我々は高核抗体価の高い患者血清をimmunoblotting法でスクリーニングし、ZF5に対する自己抗体を持つ患者血清を見だし、現在解析中である。

A. 原 著

1. Walter, J.^{*1}, Cremer, T.^{*1}, Miyagawa, K., Tashiro, S.^{*2}(^{*1}Ludwig Maximilians Univ., ^{*2}2nd Dept. Biochem.): A new system for laser-UVA-microirradiation of living cells. *J. Microscopy*, 209:71-75, 2003. (G) (I)
2. Tsuruga, T., Kanamoto, T.^{*1}, Kato, T.^{*1}, Yamashita, H.^{*2}, Miyagawa, K., Mishima, H.K.^{*1}(^{*1}Dept. Ophthal. ^{*2}Yamagata Univ.): Ocular development-associated gene (ODAG), a novel gene highly expressed in ocular

development. Gene, 290:125-130, 2002. (R)(G)(I)

3. 宮川 清：ゲノム障害研究と腫瘍学. Angle, 最新・血液内科学シリーズ vol.43, 2002. (R)(G)

B. 学会発表

1. 宮川 清, 敦賀孝典, 桂真理：ヒト細胞における相同組換え機構の解析. 第2回分子生物学会春季シンポジウム. 広島, 2002. (R)(G)
2. 宮川 清：ヒト細胞における相同組換え機構の解析と応用. 国立がんセンターセミナー. 東京, 2002. (R)(G)
3. 宮川 清：ヒト細胞における標的遺伝子変異とがん研究. 放射線影響研究所セミナー. 広島, 2002. (R)(G)
4. 宮川 清, 田中耕三：相同組換え修復における RAD54と RAD54B の機能的差異. 第61回癌学会総会. 東京, 2002. (日本癌学会総会記事, 95, 2002) (R)(G)
5. Ishida, M., Ishida, T.*, Nakashima*, H., Miho, N.*, Oshima, T.*, Kannbe, M.*, Cyayama, K.*, Yoshizumi, M. (*Sch. Med.): MnK, a novel substrate for MAP kinase, is involved in angiotensin II-mediated protein synthesis in vascular smooth muscle cells. The 75th American Heart Association, USA, 2002. (The 75th American Heart Association program, 156)
6. 芳原敬士, 宮川 清：XRCC3 is required for chromosome stability in human cells. 第25回日本分子生物学会年会. 横浜, 2002. (第25回日本分子生物学会年会プログラム・講演要旨集, 490) (R)(G)
7. 桂 真理, 宮川 清：ヒト体細胞における MRE11の機能解析. 第25回日本分子生物学会年会. 横浜, 2002. (第25回日本分子生物学会年会プログラム・講演要旨集, 496) (R)(G)
8. Ishida, M., Ishida, T.*, Miho, N.* Oshima, T.* Yoshizumi, M.* (*Sch. Med.): MAP kinase Signal-integrate Kinase-1(MnK1) a novel substrate for MAPK, is involved in Angiotensin II-mediated protein synthesis. The 67th Annual Meeting of the Japanese Circulation Society. Fukuoka, 2003. (The 67th Annual Meeting of the Japanese Circulation Society Program, 308)

科学研究費受領状況

文部科学省科学研究費特定領域研究(2)

宮川 清 12213088 相同組換え修復機構の異常と発がん 代表

文部科学省革新的技術開発研究推進費

宮川 清 高齢者医療における肝再生の臨床応用 分担

