

受賞者

仁科 博史

東京医科歯科大学難治疾患研究所 発生再生生物学分野

研究テーマ

DNA修復か細胞死かを決定する分子機構の解明

1. 目的

ゲノムDNAは様々な内的および外的要因によって常に損傷の危機に曝されている。軽度のDNA損傷に対しては、損傷部位を認識して修復するDNA修復酵素群が生体防御の役割を果たし、細胞の恒常性は維持される。一方、過度のDNA損傷が与えられた場合は、傷ついた細胞は自殺し（アポトーシス）、速やかに排除される機構が働く。ストレス応答性のMAPキナーゼであるstress-activated protein kinase (SAPK、別名JNK) は、紫外線照射やDNAアルキル化剤MMSなどのDNA損傷を誘導する薬剤により、持続的に活性化され、細胞周期の停止やアポトーシス誘導の引き金となることが知られている。しかしながら、DNA損傷という核内で生じた事象が、どのようなシグナル伝達機構を介して、細胞質中に存在するSAPK/JNKの活性化という情報に変換されるかは不明であった。最近我々は、核内に複数存在する粒子で、DNA損傷のセンサーとして注目されている“Promyelocytic Leukaemia (PML) ボディー”がDNA損傷時に起点となり、核内から細胞質への情報伝達を媒介し、SAPK/JNKの持続的活性化を誘導することを明らかにした (EMBO J. 2006)。本研究では、活性化されたJNKがアポトーシス誘導に果たす役割の解析を行った。

2. 方法

2- 1) MST1活性化によって誘導される染色体凝集の生化学的解析

恒常的活性型MST1を発現させアポトーシス誘導を行う。この時のJNKシグナルの効果を各種遺伝子欠損細胞および阻害剤を用いて生化学的に解析した。

2- 2) MST1活性化によって誘導される染色体凝集の共焦点顕微鏡を用いた解析

恒常的活性型MST1を発現させアポトーシス誘導を行う。この時の染色体構造やPMLボディーに存在する蛋白質の挙動を共焦点顕微鏡により解析した。

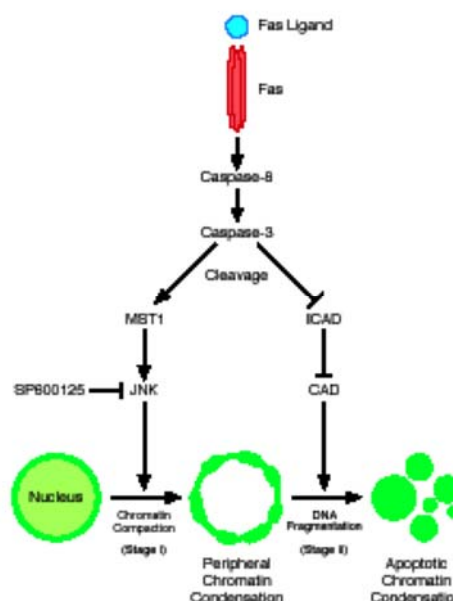
3. 結果

申請者らはこれまで、JNKシグナル伝達経路の上流因子MST1の研究を通じて、MST1によるJNKシグナル伝達経路の活性化がCaspaseの活性化を誘導するアポトーシスの制御因子としての役割をもつと同時に、Caspaseの活性化を介さないで細胞死を実行する細胞死実行因子である可能性を見出してきた。そこで活性化型MST1を発現誘導し、核凝集の様子をカスパーゼ阻害剤の有無で検討した。その結果、MST1はカスパーゼの下流で核凝集を誘導することが示唆された。次に活性化型MST1の下流にJNKシグナル存在しているか否か検討した。我々は既に遺伝子破壊法によってMKK4とMKK7がともに欠損しJNK活性が誘導されない細胞作出済みであり、これを用いて検討した。その結果、MST1によって誘導される核凝集にはJNKの活性化が必須であることが示された。次にJNKの活性化が核凝集に十分であることをMKK7-JNK融合蛋白質をコードするプラスミドを用いて検討した。その結果、JNKは核凝集の誘導に十分であることが示唆された。さらに、ヒストンH2Bの14番目のセリン残基のリン酸化は下流のカス

パーゼによって誘導されること、MST1によって誘導される核凝集にc-Junを介した転写は必須でないこと、Fasを介したアポトーシス時に観察される核凝集にJNKの活性化は必須であることを明らかにした (図)。

4. まとめ

アポトーシスの特徴の一つである核凝集の誘導におけるJNKシグナル伝達経路の役割の解析を通じて、CaspaseによるJNKの活性化が核凝集の誘導に重要であることを見出した。これらの研究成果から、JNKがアポトーシスを誘導する細胞死制御因子であると同時に、アポトーシスの細胞死実行プロセスを担う細胞死実行因子としての役割を持つことが明らかになった (図)。



5. 発表論文

- 1) Daiju Kitagawa, Hiroaki Kajiho, Takahiro Negishi, Seiji Ura, Tomomi Watanabe, Teiji Wada, Hidenori Ichijo, Toshiaki Katada, and **Hiroshi Nishina*** (2006) Release of RASSF1C from the nucleus by DAXX degradation links DNA damage and SAPK/JNK activation. *EMBO J.* 25, 3286-3297.
- 2) Seiji Ura, **Hiroshi Nishina***, Yukiko Gotoh, and Toshiaki Katada (2007) Activation of the JNK pathway by MST1 is essential and sufficient for the induction of chromatin condensation during apoptosis. *Mol. Cell. Biol.* 27, 5514-5522.
- 3) Wada T, Stepniak E, Hui L, Leibbrandt A, Katada T, **Nishina H**, Wagner EF, Penninger JM. (2008) Antagonistic control of cell fates by JNK and p38-MAPK signaling. *Cell Death Differ.* 15, 89-93.
- 4) Yoshio Marumoto, Shuji Terai, Yohei Urata, Toshihiko Matsumoto, Yuko Mizunaga, Naoki Yamamoto, Haiyan Jin, Koichi Fujisawa, Tomoaki Murata, Koh Shinoda, **Hiroshi Nishina**, Isao Sakaida (2008) Continuous high expression of XBP1 and GRP78 is important for the survival of bone marrow cells in CCl4-treated cirrhotic liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 367, 546-552.
- 5) Shizue Ohsawa, Tomomi Watanabe, Toshiaki Katada, **Hiroshi Nishina**, Masayuki Miura (2008) Novel antibody to human BASP1 labels apoptotic cells post-caspase activation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 371, 639-643.
- 6) Shinya Takahashi, Yasuhiro Araki, Yuriko Ohya, Takeshi Sakuno, Shin-ichi Hoshino, Kenji Kontani, **Hiroshi Nishina**, and Toshiaki Katada (2008) Upf1 potentially serves as a RING-related E3 ubiquitin ligase via its association with Upf3 in yeast. *RNA* 14, 1950-1958.
- 7) Tomohiko Maehama, Masahiko Tanaka, **Hiroshi Nishina**, Makoto Murakami, Yasunori Kanaho, and Kentaro Hanada (2008) RalA functions as an indispensable signal mediator for nutrient sensing

system. J. Biol. Chem. in press