

環境ストレスによるヌクレオチドプールの 恒常性破綻の分子病態と制御機構の解明

Molecular pathology and regulatory mechanisms
involved in the breakdown of nucleotide pool
homeostasis under environmental stress

中別府 雄作 (NAKABEPPU YUSAKU)

九州大学・生体防御医学研究所・教授



研究の概要

本研究では、環境ストレスによる修飾ヌクレオチドの生成が引き起こす生体障害を「ヌクレオチドプールの恒常性の破綻」としてとらえ、放射線による修飾ヌクレオチドの生成と生物影響を、ゲノムDNAの機能障害、RNAの機能障害、遊離の異常修飾ヌクレオチドによる細胞機能障害とその防御機構に注目して多様な放射線生物応答の制御機構を明らかにします。

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：損傷、ヌクレオチドプール、DNA、RNA、変異、神経変性

1. 研究開始当初の背景

遺伝情報を担うDNAは放射線などの外的要因によって、あるいは呼吸など細胞自身の生命活動によって発生するさまざまな活性分子種によって損傷を受けています。我々は、DNA損傷が増殖細胞では突然変異を経て発がんの原因となり、神経などの非増殖細胞では細胞死を経て変性疾患の原因となる事を明らかにし、DNA分子に直接生じた損傷だけでなく、その材料であるモノヌクレオチドの損傷がゲノム障害の原因となることを発見しました。DNA上の遺伝情報を維持するためには、その材料であるモノヌクレオチドの供給源であるヌクレオチドプールの品質管理が重要なことは明らかです。またモノヌクレオチドはエネルギー運搬やシグナル伝達など多様な細胞機能にも関わっています。

2. 研究の目的

本研究は、環境ストレスによるヌクレオチドプールの障害に着目し、ヌクレオチドプールの恒常性維持に寄与する分子の同定、解析を行い、その生物学的重要性を明らかにすることを目的としています。

3. 研究の方法

ヌクレオチドプールの恒常性の破綻に起因する生命現象を、分子、細胞、個体の各レベルにおいて同定し、解析します。具体的には、放射線や化学物質によって生成される損傷ヌクレオチドを検出・同定し、細胞、組織中から検出、定量するシステムを構築します。このシステムを用いて、生体内で生成される損傷ヌクレオチドを定量、評価します。損傷ヌクレオチドによって影響を受けるタンパ

ク質や損傷ヌクレオチドを分解するタンパク質などを単離・同定し、その遺伝子をクローニング、解析します。損傷ヌクレオチドの生物学的作用を培養細胞とマウス個体を用いて確認し、同定した遺伝子を破壊し、あるいは発現増強させることで、これらがゲノムやヌクレオチドプールの恒常性維持に果たす役割を明らかにします。アルツハイマーモデルマウスや発がんモデルマウスを用いて、損傷ヌクレオチドがこれらの疾病にどのように関与しているのかを探ります。

4. これまでの成果

活性酸素によるDNA損傷の起源としては従来DNA中の塩基が直接酸化されて生じると信じられていましたが、ヌクレオチドプール中のdGTPなどの酸化で生じた酸化ヌクレオチドがDNA複製に際して取り込まれたものが、主要な起源であることを明らかにしました。

Bystander effectsなどDNAへの直接作用では説明できない放射線の生物影響の重要性が指摘されています。我々は、水の放射線分解で生成される活性酸素がDNAよりも遊離のヌクレオチドに対して25倍から100倍に達する高い効率で作用することを明らかにしました。さらに、放射線照射を受けた動物の胸腺由来のT細胞が照射後長期間経ってBystander effectsを発揮する事が明らかになり、その主要なメディエータが活性酸素とその反応産物であることが判明し、酸化ヌクレオチドが重要なメディエータとして機能することを明らかにしました。

アルツハイマー病などにおける活性酸素

による脳神経障害の原因として酸化ヌクレオチドの関与が大きいことを明らかにしました。神経細胞のミトコンドリアゲノムとミクログリアの核ゲノムへの酸化ヌクレオチドの取り込みと DNA 修復系に依存した細胞死プログラムの活性化が神経変性の主要なメカニズムであることを証明しました。

5. 今後の計画

放射線と生体内環境ストレスによるヌクレオチドプールの恒常性破綻の生体への影響と応答を以下のアプローチで解明します。放射線による修飾ヌクレオチド生成への生体内環境ストレスの影響を解明します。修飾ヌクレオチドの Bystander effects のメディエータとしての機能と作用機序を解明します。修飾ヌクレオチド分解酵素、DNA 中の修飾ヌクレオチド修復酵素や修飾ヌクレオチドを含む RNA 分解酵素等の機能と放射線生物影響への関わりを明らかにします。疾患モデルマウスへの放射線照射の影響をヌクレオチドプールの恒常性、ゲノム DNA 障害、遊離の修飾ヌクレオチドによる細胞機能制御に注目して解明します。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

1. Hokama M, Oka S, Leon J, Ninomiya T, Honda H, Sasaki K, Iwaki T, Ohara T, Sasaki T, LaFerla FM, Kiyohara Y, Nakabeppu Y. Altered expression of diabetes-related genes in Alzheimer's disease brains: The Hisayama study. *Cereb Cortex* 23: in press, 2013.
2. Tsuji H, Ishii-Ohba H, Shiomi T, Shiomi N, Katsube T, Mori M, Neno M, Ohno M, Yoshimura D, Oka S, Nakabeppu Y, Tatsumi K, Muto M, Sado T. Nature of nontargeted radiation effects observed during fractionated irradiation-induced thymic lymphomagenesis in mice. *J Radiat Res*, in press, 2013.
3. Yutsudo N, Kamada T, Kajitani K, Nomaru H, Katogi A, Ohnishi YH, Ohnishi YN, Takase KI, Sakumi K, Shigeto H, Nakabeppu Y. *fosB*-null mice display impaired adult hippocampal neurogenesis and spontaneous epilepsy with depressive behavior. *Neuropsychopharmacology*: 38, 895-906, 2013.
4. Sheng Z, Oka S, Tsuchimoto D, Abolhassani N, Nomaru H, Sakumi K, Yamada H, Nakabeppu Y. 8-Oxoguanine causes neuro- degeneration during MUTYH- mediated DNA base excision repair. *J Clin Invest*: 122, 4344-4361, 2012.
5. Sampath H, Vartanian V, Rollins MR, Sakumi K, Nakabeppu Y, Lloyd RS. 8-Oxoguanine DNA glycosylase (OGG1) deficiency increases susceptibility to obesity and metabolic dysfunction. *PLoS ONE*: 7, e51697, 2012.
6. Murakami Y, Ikeda Y, Yoshida N, Notomi S, Hisatomi T, Oka S, De Luca G,

Yonemitsu Y, Bignami M, Nakabeppu Y, Ishibashi T. MutT homolog-1 attenuates oxidative DNA damage and delays photoreceptor cell death in inherited retinal degeneration. *Am J Pathol*: 181, 1378-1386, 2012.

7. Fujita K, Yamafuji M, Nakabeppu Y, Noda M. Therapeutic approach to neurodegenerative diseases by medical gases: focusing on redox signaling and related antioxidant enzymes. *Oxid Med Cell Longev*: 2012, 324256, 2012
8. Oka S, Nakabeppu Y. DNA glycosylase encoded by MUTYH functions as a molecular switch for programmed cell death under oxidative stress to suppress tumorigenesis. *Cancer Sci*: 102, 677-682, 2011.
9. Ohnishi YN, Ohnishi YH, Hokama M, Nomaru H, Yamazaki K, Tominaga Y, Sakumi K, Nestler EJ, Nakabeppu Y. FosB is essential for the enhancement of stress tolerance and antagonizes locomotor sensitization by Δ FosB. *Biol Psychiatry*: 70, 487-495, 2011.
10. Iwama E, Tsuchimoto D, Iyama T, Sakumi K, Nakagawara A, Takayama K, Nakanishi Y, Nakabeppu Y. Cancer-related PRUNE2 protein is associated with nucleotides and is highly expressed in mature nerve tissues. *J Mol Neurosci*: 44, 103-114, 2011.
11. Tsuchimoto D, Iyama T, Nonaka M, Abolhassani N, Ohta E, Sakumi K, Nakabeppu Y. A comprehensive screening system for damaged nucleotide-binding proteins. *Mutat Res*: 703, 37-42, 2010.
12. Sakumi K, Abolhassani N, Behmanesh M, Iyama T, Tsuchimoto D, Nakabeppu Y. ITPA protein, an enzyme that eliminates deaminated purine nucleoside triphosphates in cells. *Mutat Res*: 703, 43-50, 2010.
13. Nakabeppu Y, Oka S, Sheng Z, Tsuchimoto D, Sakumi K. Programmed cell death triggered by nucleotide pool damage and its prevention by MutT homolog-1 (MTH1) with oxidized purine nucleoside triphosphatase. *Mutat Res*: 703, 51-58, 2010.
14. Iyama T, Abolhassani N, Tsuchimoto D, Nonaka M, Nakabeppu Y. NUDT16 is a (deoxy)inosine diphosphatase, and its deficiency induces accumulation of single-strand breaks in nuclear DNA and growth arrest. *Nucleic Acids Res*: 38, 4834-4843, 2010.
15. Abolhassani N, Iyama T, Tsuchimoto D, Sakumi K, Ohno M, Behmanesh M, Nakabeppu Y. NUDT16 and ITPA play a dual protective role in maintaining chromosome stability and cell growth by eliminating dIDP/IDP and dITP/ITP from nucleotide pools in mammals. *Nucleic Acids Res*: 38, 2891-2903, 2010.

ホームページ等

<http://www.bioreg.kyushu-u.ac.jp/nfg/>