

【目的】 DNA 損傷シグナルはゲノムの恒常性維持を担い、癌の制御に重要な役割を果たすが、酸化ストレスや慢性炎症に伴う肥満組織や動脈硬化巣においても機能することが報告され注目されている。そこで、癌と生活習慣病に作用する分子機構として、DNA 損傷シグナル Chk2-p53 に着目し、その制御機構を検討した。

【方法】 ヒト癌細胞株を用いて、DNA 傷害依存的な Chk2 リン酸化状態の変化を観察した。LC-MS/MS によって、Chk2 の新規リン酸化部位の同定し、結合タンパク解析を行った。Chk2 発現制御におけるユビキチン化の役割を検討するため、ユビキチン化アッセイを行い、Fucci (Fluorescent ubiquitination-based cell cycle indicator) システムを用いて細胞周期制御との関連を評価した。病態生理学的な検討のため、乳癌患者のデータベース解析と肥満脂肪組織の発現解析による発現解析を行った。

【結果・考察】 フォスタグを用いた生化学的解析から、DNA 損傷応答において、時間・濃度依存的に Chk2 のリン酸化の多段階的变化を認めた。LC-MS/MS を用いてリン酸化状態を解析した結果、新規を含めたリン酸化・メチル化/Ub 化部位を同定した。また、Chk2 結合分子として、ユビキチン制御に関わる因子やリガーゼ分子を認めた。Fucci システムと変異体を組み合わせた機能解析から、Chk2 は C 末端の Cys を中心に Ub 化され、その制御に新規 Thr441/Ser442 リン酸化が関与し、p53 依存的 G1 arrest 作用を有していた。乳癌患者のデータベース解析より浸潤性乳癌群の間質組織での Chk2 発現低下が認められ、肥満脂肪組織の発現解析では、肥満患者における Chk2 リン酸化に伴う p53-p21 経路の活性化を認めた。

【結論】 DNA 損傷応答機構の key-regulator である Chk2 は、多彩なリン酸化や Ub 化による発現調整を受けて、p53 依存的細胞周期制御を果たすことが明らかとなった。

癌、生活習慣病、老化における DNA 損傷応答

