

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

題目(和文)	化学物質及び薬物誘発性ストレスが引き起こす LINE1 レトロトランスポジションの活性化
Title(English)	
著者(和文)	寺崎奈都子
Author(English)	Terasaki Natsuko
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第9402号, 授与年月日:2014年3月26日, 学位の種類:課程博士, 審査員:梶川 正樹,岩崎 博史,太田 啓之,駒田 雅之,相澤 康則
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第9402号, Conferred date:2014/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	論文要旨
Type(English)	Summary

## 論文要旨

THESIS SUMMARY

専攻： Department of	生体システム	専攻	申請学位 (専攻分野)： 博士 (理学)
学生氏名： Student's Name	漏田 奈都子		指導教員 (主)： 梶川 正樹 講師
			指導教員 (副)：
			Academic Advisor(sub)

### 要旨 (和文 2000 字程度)

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters )

長鎖散在性反復配列である LINE1 または L1 はヒトゲノムの 17%を占めており、80-100 コピーのヒト L1 がレトロトランスポジション活性を保持していると考えられている。活性のある L1 がレトロトランスポジションを起こし、自身のコピーがゲノム中の新しい座位に挿入されると、ゲノム変異をもたらされる。したがって、レトロトランスポジション活性を有する L1 は内在性の変異原である。実際、L1 の挿入による遺伝子変異が原因の病気が多数報告されている。これらの病気から発見された L1 の挿入は、生殖細胞もしくは発生初期におけるレトロトランスポジションによるものと考えられるが、体細胞でも L1 レトロトランスポジションが起こり、癌化の原因となると考えられている。近年、benzo[a]pyrene、UV 照射、 $\gamma$ 線照射のような DNA 損傷をおこすストレスや、 $H_2O_2$ による酸化ストレス等、ストレスによるヒト L1 の転写やレトロトランスポジションの活性化が報告されている。また、L1 RNA、ORF1 タンパク質、ORF2 タンパク質が、ストレス条件下で形成される細胞質のストレス顆粒中に局在しており、L1 レトロトランスポジションとストレスの関与が示唆されている。化学物質や薬によって誘発されるストレスが L1 のレトロトランスポジションを活性化し、生殖細胞や体細胞で機能遺伝子に L1 が挿入されると、遺伝子疾患、胎児奇形、癌などにつながる可能性が考えられる。しかし、どのような化合物が L1 のレトロトランスポジションに影響を与えるのか幅広く調べられた例はない。そこで、本研究では、ヒト L1 の転写及びレトロトランスポジションを誘導する化合物の探索を行った。まず、HepG2 細胞における L1 レポーター遺伝子実験を行い、遺伝毒性物質、細胞ストレス誘発物質、市販薬を含む 95 化合物の L1 転写への影響を評価した。その結果、遺伝毒性物質の中では、benzo[a]pyrene、camptothecin、Merbarone、cytochalasin D、vinblastine が L1 転写活性を 1.5 倍以上上昇させた。細胞ストレス誘発物質では、cyclosporin A、diethyl malate、etomoxir、exo1 が L1 転写活性を 1.5 倍以上上昇させた。市販薬では、高脂血症治療薬である PPAR $\alpha$  アゴニストの bezafibrate、fenofibrate 及びシクロオキシゲナーゼ阻害作用で解熱鎮痛剤として使用されている非ステロイド性炎症薬 (NSAIDs) の diflunisal、flufenamic acid、salicylamide、sulindac が L1 転写活性を 1.5 倍以上上昇させた。次に、これらの化合物の L1 レトロトランスポジションへの影響を評価するため、分泌型ガウシアルシフェラーゼをレポーター遺伝子とする *mGLucI* レトロトランスポジション検出カセットを用いた新規の高スループットデュアルレトロトランスポジション検出系を構築した。PCR 法及び逆転写酵素阻害剤 AZT を用い、レトロトランスポジションが検出されていることを確認した。本実験系を用いて転写を 1.5 倍以上活性化させた 15 化合物を含む 26 化合物のレトロトランスポジションへの影響を評価した結果、脂肪酸  $\beta$ 酸化阻害作用によりミトコンドリア機能障害を誘発する etomoxir、シクロオキシゲナーゼ阻害作用で解熱鎮痛剤として使用されている NSAID の salicylamide、PPAR $\alpha$  アゴニストである WY-14643 の 3 化合物が濃度依存的に 1.2 倍以上まで有意に L1 レトロトランスポジション頻度を上昇させた。転写を 1.5 倍以上上昇させた 15 化合物のうち、L1 レトロトランスポジション頻度を上昇させたものが 2 化合物のみであったことより、L1 のレトロトランスポジションが転写後に抑制されている可能性が考えられた。本研究において、L1 転写及びレトロトランスポジションを有意に誘導する化合物がいくつか新たに発見され、その中には日常生活で曝露される市販薬も含まれていた。このような化合物が生体内に曝露された場合、化学物質や薬剤誘発性のストレスによって、生体内でレトロトランスポジションが活性化され、ゲノム変異をもたらす可能性が考えられる。これは、レトロトランスポジションが活性化されることにより、機能遺伝子内に L1 が挿入されて病気を引き起こすという重篤なリスクが増加することを意味している。したがって、薬や化学物質の安全性評価において、化合物により誘発されるレトロトランスポジションの活性化のリスクを考慮していく必要があるのではないかと考える。

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note : Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

(博士課程)  
Doctoral Program

## 論文要旨

THESIS SUMMARY

専攻 : Department of	生体システム	専攻	申請学位 (専攻分野) : Academic Degree Requested	博士 Doctor of	(理学)
学生氏名 : Student's Name	漏田 奈都子		指導教員 (主) : Academic Advisor(main)	梶川 正樹	講師
			指導教員 (副) : Academic Advisor(sub)		

要旨 (英文 300 語程度)

Thesis Summary (approx.300 English Words )

The Long interspersed element 1 (LINE1 or L1) retrotransposon constitutes 17% of the human genome. There are currently 80–100 human L1 elements that are thought to be active in any diploid human genome. These elements can mobilize into new locations of the genome, resulting in changes in genomic information. Active L1s are thus considered to be a type of endogenous mutagen, and L1 insertions can cause disease. Certain stresses, such as gamma radiation, oxidative stress, and treatment with some agents, can induce transcription and/or mobilization of retrotransposons. In this study, we used a reporter gene assay in HepG2 cells to screen compounds for the potential to enhance the transcription of human L1. We assessed 95 compounds including genotoxic agents, substances that induce cellular stress, and commercially available drugs. Treatment with 15 compounds increased the L1 promoter activity by >1.5-fold ( $p < 0.05$ ) after 6 or 24 hours of treatment. In particular, genotoxic agents (benzo[a]pyrene, camptothecin, cytochalasin D, merbarone, and vinblastine), PPAR $\alpha$  agonists (bezafibrate and fenofibrate), and non-steroidal anti-inflammatory drugs (diflunisal, flufenamic acid, salicylamide, and sulindac) induced L1 promoter activity. To examine their effects on L1 retrotransposition, we developed a high-throughput real-time retrotransposition assay using a novel secreted Gaussia luciferase reporter cassette. Three compounds (etomoxir, WY-14643, and salicylamide) produced a significant enhancement in L1 retrotransposition. This is the first study to report the effects of a wide variety of compounds on L1 transcription and retrotransposition. These results suggest that certain chemical- and drug-induced stresses might have the potential to cause genomic mutations by inducing L1 mobilization. Thus, the risk of induced L1 transcription and retrotransposition should be considered during drug safety evaluation and environmental risk assessments of chemicals.

備考 : 論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note : Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).