

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

題目(和文)	
Title(English)	Functional evaluation of DNA double-strand break repair protein XRCC4 associated with development and cancer risk
著者(和文)	ASAAnie Day De Castro
Author(English)	Anie Day De Castro ASA
出典(和文)	学位:博士(学術), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第12048号, 授与年月日:2021年6月30日, 学位の種別:課程博士, 審査員:松本 義久,千葉 敏,鷹尾 康一郎,塚原 剛彦,岩崎 博史
Citation(English)	Degree:Doctor (Academic), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12048号, Conferred date:2021/6/30, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

## 論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第	号	学位申請者氏名	ASA Anie Day De Castro		
		氏名	職名			
論文審査 審査員	主査	松本 義久	准教授	審査員	岩崎 博史	教授
	審査員	千葉 敏	教授			
		鷹尾 康一朗	准教授			
		塚原 剛彦	准教授			

## 論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は、「Functional evaluation of DNA double-strand break repair protein XRCC4 associated with development and cancer risk」と題し、全5章から構成されている。

第1章「Introduction」では、本研究の背景と目的を述べている。DNA損傷のうちもっとも重篤と考えられるDNA二本鎖切断(DSB)は、放射線照射によって誘発されることに加え、さまざまな組織の構築過程や日常の営みの中で絶えず生じている。そのため、DSB修復の異常は、がんをはじめとするさまざまな疾患につながる。DSBは主として、相同組換えと非相同末端結合(NHEJ)によって修復される。XRCC4はNHEJにおいて重要なタンパク質の一つであり、DNA鎖を結合する酵素であるDNA ligase IV(LIG4)の安定化や機能に必要である。小頭症、発育不全などを呈する先天性遺伝疾患の患者において、XRCC4遺伝子の変異が見出されている。しかし、LIG4など他のNHEJ遺伝子に変異を有する患者の場合と異なり、XRCC4遺伝子に変異を有する患者では免疫不全はこれまで報告されていない。また、XRCC4遺伝子の塩基置換とがんリスクの相関が報告されている。以上の背景を踏まえ、これらのXRCC4遺伝子の変異や塩基置換の機能への影響を明らかにすることを本研究の目的とすると述べている。

第2章「Materials and Methods」では、本研究で用いる材料と解析手法について述べている。XRCC4のcDNAはヒト培養細胞からPCR法を用いて取得し、FLAGタグ付加タンパク質およびEGFP融合タンパク質の発現ベクターを構築している。変異や塩基置換の導入はPCR法を用いて行っている。前者のベクターは内在性XRCC4の機能を欠損するマウス白血病由来M10細胞に導入し、放射線感受性およびDNA修復能の解析に用いている。また、後者のベクターはヒト骨肉腫由来U2OS細胞に導入し、細胞内局在やDNA損傷部位への動員の解析に用いている。

第3章「Analysis of the Functional Characteristics of XRCC4 Mutations Associated to Development」では、先天性遺伝疾患の患者で見つかった6種類の変異体XRCC4(W43R、V83-S105del、R161Q、R225X、R275X、D254Mfs\*68)を作製し、その機能解析を行っている。まず、これらの変異体XRCC4を発現する細胞では、XRCC4欠損細胞で低下しているLIG4の発現が、正常XRCC4発現細胞とほぼ同等まで回復することを示している。次に、正常XRCC4およびW43R、V83-S105del、R161Q変異体が主に核に局在するのに対し、R225X、R275X、D254Mfs\*68変異体は主に細胞質に局在することを示している。また、R225X、R275Xが細胞質にほぼ一様に分布するのに対し、D254Mfs\*68変異体は細胞質で点状の集積を示すことを見出している。6種類の変異体が発現する細胞は、いずれも正常XRCC4を発現する細胞と比べて、コロニー形成能を指標とした放射線感受性が高いことから、変異体の機能に異常があることを明らかにしている。一方、V83-S105del変異体発現細胞を除いて、XRCC4欠損細胞より放射線感受性が低いことから、V83-S105del以外の変異体では部分的に機能が残存していると結論付けている。

第4章「Analysis of Functional Characteristics of XRCC4 Polymorphism Associated to Cancer Risk」では、がんとの相関が報告されているXRCC4のA247S置換体を作製し、その機能解析を行っている。まず、A247S置換体が発現する細胞は、正常XRCC4を発現する細胞に比べてコロニー形成能を指標とした放射線感受性が高く、 $\gamma$ -H2AXを指標としたDSB修復能が低いことを示している。次に、A247S置換体は正常XRCC4に比べて細胞質への局在が多いこと、DNA損傷部位への集積が低下していることを見出し、DSB修復能低下の原因の可能性として示している。

第5章「Conclusion」では、各章で得られた結果を総括し、本論文の結論を述べている。

これを要するに、本論文はDNA二本鎖切断修復タンパク質XRCC4における小頭症、発育不全などの先天性遺伝疾患患者に見られる変異やがんリスクに関連する塩基置換の機能への影響を明らかにしており、DNA二本鎖切断修復の分子機構、およびその異常による疾患の発症機構や病態の理解に繋がることから、学術上貢献するところが大きい。よって、本論文は博士(学術)の学位論文として十分価値あるものと認められる。