



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	TRIM29によるDNA修復および転写の制御 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	桒田, 安志
Description	配架番号 : 2191
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第11961号
Issue Date	2015-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/60056
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Yasushi_Masuda_review.pdf, 審査の要旨



学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 梶田 安志

主査 教授 大場 雄介
審査担当者 副査 教授 野口 昌幸
副査 教授 佐邊 壽孝
副査 教授 三輪 聡一

学 位 論 文 題 名

TRIM29 による DNA 修復および転写の制御
(TRIM29 regulates DNA repair and transcription)

Tripartite motif-containing protein (TRIM タンパク質) は、really interesting new gene (RING) フィンガードメイン、B-box ドメイン及び Coiled-coil ドメインからなる tripartite motif を有しており、ヒトやマウスにおいて 70 種類以上の TRIM 遺伝子が同定されている。TRIM タンパク質のうち、TRIM29 は常染色体劣性疾患である毛細血管拡張性運動失調症 (ataxia telangiectasia: AT) の機能欠損を補う遺伝子として、ヒトのコスミドライブラリーを用いた機能相補実験によって同定された。TRIM29 は、放射線耐性能やがん細胞の浸潤能の制御することが示唆されていたが、作用機序については不明であった。申請者は、TRIM29 はクロマチン上に存在する分子であること明らかにした。また、多次元タンパク質同定技術による解析によって、TRIM29 の結合タンパク質として DNA 修復タンパク質と転写制御因子を同定した。TRIM29 のクロマチンへの結合は、DNA 損傷に応答した γ H2AX の誘導および放射線耐性に必要であることが明らかになった。さらに、TRIM29 は転写制御因子である TAp63 α 、RNA ポリメラーゼ II およびメディエーター複合体に結合し、細胞接着分子や Zinc finger E-box-binding homeobox 1 (ZEB1) の発現を制御することによって、がん細胞の接着能を制御していることが明らかとなった。

審査にあたり、まず副査の野口教授から、どのようにして TRIM29 が細胞接着遺伝子の発現を特異的に制御しているのかについて質問があり、申請者は Chip assay や次世代シーケンサーを用いたゲノムワイドな解析を行えば、TRIM29 による細胞接着遺伝子の発現制御のメカニズムを解明できる可能性を述べた。また、プルダウンアッセイによって結合を評価した DNA 修復タンパク質は、多次元タンパク質同定技術による解析においてすべて同定されているのかという指摘があった。これに対して申請者は、ATM および TIP60 は質量分析において同定されていないと答えたが、

この理由として多次元タンパク質同定技術による解析において ATM および TIP60 は同定されにくいということを回答した。副査の佐邊教授からは、TRIM29 の細胞内局在を示したウエスタンブロットにおいてバンドが二本検出されていることについて質問があり、申請者は、内部開始コドン（143 番目のメチオニン残基）から生成されたアイソフォームが検出されていると回答した。また、DNA 修復経路において、どのようにして TRIM29 が足場タンパク質として機能しているのかについて質問があった。申請者は、TRIM29 はクロマチン上において DNA 修復タンパク質と複合体を形成しているが、DNA 損傷に応答して TRIM29 はクロマチンから解離することによって、DNA 損傷部位への DNA 修復タンパク質の集積を促進しているのではないかと回答した。さらに、DNA 修復における H3K36me3 の役割について問われ、H3K36me3 は DNA 修復タンパク質の足場として機能し、DNA 修復経路の活性化に必要であることが報告されていると回答した。副査の三輪教授からは、TRIM29 は、基底レベルにおける γ H2AX の foci 形成を制御しているのであって、DNA 損傷によって誘導される γ H2AX の foci 形成の制御に関わっていないのではないかという指摘を受けた。申請者は、基底レベルにおける γ H2AX の foci 形成と DNA 損傷に応答した γ H2AX の foci 形成における TRIM29 の役割について検証する必要性を述べた。主査の大場教授からは、ATM が欠損している AT の細胞に TRIM29 を発現させた場合、どのようにして TRIM29 は放射線耐性能を上昇させるのかについて質問があった。申請者は、TRIM29 は DNA-PKcs を介して DNA 修復経路を活性化することによって、放射線耐性能を上昇させている可能性を述べた。

この論文は、TRIM29 が DNA 修復経路の制御因子であることを明らかとし、また細胞接着分子や ZEB1 の発現制御を行うことによってがん細胞の接着能を制御していることを明らかとした。DNA 修復やがん細胞の機能制御における TRIM29 の機能の解明は、がんの新たな診断や治療方法の開発に繋がることが期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院博士課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。