

# Chromatin-remodeling factor BAZ1A/ACF1 targets UV damage sites in an MLL1-dependent manner to facilitate nucleotide excision repair

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2023-04-19 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 小谷内, 敬史 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/00004351">http://hdl.handle.net/10271/00004351</a>

博士（医学）小谷内 敬史

論文題目

Chromatin-remodeling factor BAZ1A/ACF1 targets UV damage sites in an MLL1-dependent manner to facilitate nucleotide excision repair

（クロマチンリモデリング因子 BAZ1A/ACF1 は MLL1 依存的に紫外線損傷部を標的しヌクレオチド除去修復を促進する）

論文の内容の要旨

[はじめに]

紫外線 (Ultra violet, UV) は DNA 鎖上に cyclobutane pyrimidine dimers (CPD) や (6-4) 光生成物を産生し、DNA の高次構造を歪ませることで転写や複製を妨げる。ヌクレオチド除去修復 (Nucleotide excision repair, NER) 機構はこれら損傷の修復に重要な機構である。NER は転写 DNA 鎖に作用する transcriptional coupled (TC) -NER およびゲノム全体に作用する global genome (GG) -NER の 2 種類がある。後者において DNA damage-binding protein 2 (DDB2) は CPD を感知する必須因子である。申請者の所属講座より、histone acetyltransferase binding to ORC1 (HBO1) が DDB2 と相互作用し、その際に未知のヒストンメチルトランスフェラーゼ (KMT) によるヒストン H3 リジン 4 (H3K4) のメチル化を介して UV 照射部にクロマチンリモデリング因子である bromodomain adjacent to zinc finger domain1A (BAZ1A) /ATP-utilizing chromatin assembly and remodeling factor 1 (ACF1) の集積を促すことを以前に報告した。本研究では、この分子機構の解明を目指し、NER にかかわる H3K4 のメチル化に関与する KMT の同定、分子メカニズムの検討をおこなった。

[材料ならびに方法]

実験には HeLa または HEK293T 細胞を使用した。Xeroderma pigmentosum, complementation group C (XPC)、myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia (MLL) 1、MLL2、MLL4、MLL5 を small interfering RNA により枯渇させた後、UV を照射し、24 時間培養後に抗 CPD 抗体で免疫染色することで CPD 除去能への各因子の影響を評価した。次に NER に関連する可能性の高い KMT である MLL1 について、UV 感受性への影響を評価した (Clonogenic assay)。HBO1 および DDB2 との相互作用を調べるため、免疫沈降後ウエスタンブロット (IP-WB) および細胞へ局所的な UV 照射施行後に免疫染色を行った。また MLL1 の枯渇や欠失が NER に関わる因子の UV 照射部への集積に影響するかを Local UV 実験で検討した。最後に公共データベース上の腫瘍データを用い、がんにおける MLL1 の変異頻度、変異および発現量が腫瘍の遺伝子変異量に及ぼす影響を検討した。遺伝子変異量の増大は免疫チェックポイント阻害薬 (Immune checkpoint inhibitor, ICI) の効果予測因子であることが報告されており、MLL1 変異の有無が ICI 治

療症例の生存期間に関連するか検討した。

[結果]

MLL1、MLL2、MLL4、MLL5のうち、MLL1の枯渇だけがCPDの除去を阻害した。そのためMLL1をNERに関連するKMTの候補として以降の実験を行った。Clonogenic assayによりMLL1を枯渇させたHela細胞ではUV感受性が亢進することが確認された。これは外来性にMLL1を発現させることで相補された。MLL1を欠失させたHEK293T細胞を用いた実験でも上記の結果は再現された。以上よりMLL1がUV照射後のDNA損傷修復および細胞生存に寄与していることが判明した。Local UV照射後免疫染色にて、Ser516リン酸化型MLL1 (MLL1-pS516)がUV照射部に局在することを確認した。IP-WBにより内在性HBO1とMLL1の結合が確認された。HBO1を枯渇させた際には、クロマチン分画のMLL1のタンパク質量およびMLL1-pS516のUV照射部への局在が低下した。以上よりUV照射部へのMLL1の安定的な局在にはHBO1が必須であることがわかった。MLL1の枯渇は、NER早期に損傷部へ集積するDDB2およびHBO1の局在には影響しなかったが、H3K4トリメチル化を弱めて、BAZ1A/ACF1の局在を大きく低下させ、NERのコア因子であるXPC、Xeroderma pigmentosum, complementation group F (XPF)の局在も減弱させた。以上よりNERの過程において、MLL1はDDB2およびHBO1と共に損傷部に集積し、H3K4トリメチル化を介してBAZ1A/ACF1を集積させることでNERを適切に進行させていることがわかった。

TCGA (The Cancer Genome Atlas) のデータを用いた検討では、MLL1はがん全体の5%の症例で変異しており、メラノーマでは20%弱の症例で変異を認めた。また腫瘍組織において多くのがん種で正常組織に比べMLL1の発現が低下していた。MLL1の変異、発現低下は腫瘍の遺伝子変異量の増加と関連していた。ICI使用症例に限定したコホートでは、MLL1変異を有する症例は全生存期間の延長を認めた。

[考察]

NERを効率的に進行させるためにヒストンの翻訳後修飾が必要であることを示すことは過去複数報告されているが、KMTであるMLL1とGG-NERの関連については新規の知見である。MLL1は固形がんにおいて変異頻度が高いことが知られていたが、機能的意義については不明であった。MLL1がGG-NERの進行を促す因子であることから、その発現低下、機能欠失はゲノム不安定性をもたらし、遺伝子変異の蓄積から発がんに寄与することが想像される。実際に、MLL1の変異、発現低下は遺伝子変異の増加と関連していた。加えて、ICI使用症例コホートでの検討では、MLL1の変異は生存期間の延長と関連しており、ICI使用症例における予後予測のバイオマーカーとしての有用性も示唆された。MLL1が腫瘍免疫に及ぼす影響については今後さらなる検討が必要である。

[結論]

MLL1 は HBO1 依存的に UV 照射部位に安定的に局在し、H3K4 トリメチル化を促進してクロマチンリモデリング因子 BAZ1A/ACF1 を集積させることで GG-NER の適切な進行を促す。MLL1 を枯渇させると、UV 照射部位への BAZ1A のリクルート、CPD の除去が抑制され、UV 感受性が亢進する。これらのデータは、DDB2-HBO1-MLL1 軸が GG-NER を促進するために必須であることを示している。