

紫外線照射で生じる DNA 損傷部位に特異的に結合するタンパク DDBp48 の発現調節

山 泉 克

熊本大学発生医学研究センター

DDB(Damaged DNA binding protein)は太陽光による DNA の傷のうち、主として(6-4)光産物に高い親和性で結合するタンパクとして見つかかり、p127(DDB1)と p48(DDB2)のヘテロ 2 量体であることが報告されている。また、DNA 修復異常症である色素乾皮症の E 群(xerodermapigmentosum E:XPE)の一部に DDB2 欠損が見つかることから DDB は DNA 修復に関与していると考えられてきたがその機能はごく最近までは不明であった。

我々は、DDB が欠損すると(6-4)光産物の修復効率が低下し、長時間にわたって傷が残存することを見出した。興味深いことに DDB は細胞周期の G1 期から S 期への移行に重要な役割を果たす転写因子 E2F と結合してその転写活性を調節していること、更にはがん抑制遺伝子 p53 により p48 自身の発現が調節されていることが相次いで見つかかり、その発現調節機構が注目されている。我々は DDBp48 遺伝子の全塩基配列を決定する過程で、イントロンの 1 つに p53 結合配列(p53 responsive element:p53RE)に適合する配列を見出している。本研究は、XPE と DDB2 との関係性を明らかにした上で DDBp48 の調節機構を解明し、これを基盤としてその発現を人為的にコントロールすることで皮膚の老化等の防止に応用可能かどうかを検討する。

【結果および考察】

紫外線照射後の DDB2 の転写活性化は、同じく p53 により転写の活性化を受ける p21/WAF1 よりかなり遅れて起こっていた。DDB2 遺伝子のイントロン 4 に存在する p53RE の p53 結合性はゲルシフトアッセイにより確認され、その転写活性化能もルシフェラーゼアッセイにより確認されたが、その活性化能は p21/WAF1 の P53CON と比較すると相当弱く、更に DDB2 遺伝子の p53RE 近傍の配列も含めてルシフェラーゼアッセイを行なうと陰性コントロール以下の転写活性化能を示した。このことから、DDB2 遺伝子のイントロン 4 に存在する p53RE は、活性化した p53 により弱い活性化を受け、しかも p53RE 近傍の配列により抑制的な調節を受けていることが考えられた。このことが紫外線照射後の DDB2mRNA 転写量の増加が p21/WAF1 の場合と比較して微弱で、しかもかなり遅く起こることの原因である可能性が考えられる。

DDB2 は E2F1(DNA 合成関連遺伝子の発現を positive に制御する転写因子)の co-activator であることが報告されている。細胞周期の進行を止める方向に働く p53 により何故 E2F1 の co-activator といわれる DDB2 の転写が誘導されるのか、一見矛盾しているようであるが、DNA 損傷後の p53 と DDB2 の発現のタイムコースのズレがここで重要なかもしれない。DDB2 による E2F1 の活性化は E2F1 の抑制機能を持つ Rb 蛋白の共存下でも認められることより、通常の細胞周期中でも何らかの役割を果たしている可能性が考えられる。